

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Josipa Andabak

**UTJECAJ FERMENTACIJSKE POSUDE
NA AROMATSKI PROFIL I BOJU VINA SORTE PLAVAC MALI**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2017.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za prehrambene tehnologije
Katedra za prehrambeno inženjerstvo
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Tehnologija vina

Tema rada je prihvaćena na III. Izvanrednoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2016./2017. održanoj 3. srpnja 2017.

Mentor: izv. prof. dr.sc. *Anita Pichler*

Utjecaj vrste fermentacijske posude na aromatski profil i boju vina sorte Plavac mali

Josipa Andabak, 374-DI

Sažetak: Vino je alkoholno piće koje se proizvodi fermentacijom mošta ili masulja. U njemu se nalazi nekoliko stotina različitih kemijskih spojeva koji svojim sadržajem utječu na kakvoću vina. Osim navedenih spojeva, na kakvoću i organoleptička svojstva vina velik utjecaj imaju uvjeti i način skladištenja. Posude za fermentaciju vina, načinjene od različitog materijala (inoks, drvo), različito utječu na zadržavanje, odnosno na gubitak tvari arome karakterističnih za pojedinu vrstu vina. Aroma vina potječe jednim dijelom iz grožđa, jedan dio produciraju kvasci tijekom alkoholne fermentacije, a dio nastaje odležavanjem i njegovanjem mladog vina. Fermentacijom vina u inoks cisterni zadržava se svježina i mladosti. Nasuprot tome, fermentacijom vina u drvenoj bačvi te kasnijim odležavanjem razvija se puno više lako hlapljivih tvari arome i boje.

U ovom radu ispitivan je utjecaj fermentacije u inoks cisterni i drvenoj bačvi na aromu, boju i kemijski sastav vina sorte Plavac mali. Istraživanja su pokazala da upotreba drvene bačve u procesu fermentacije i odležavanja doprinosi boljem razvoju aroma.

Ključne riječi: vino, tvari arome, flavonoidi, antocijani, tanini

Rad sadrži:	60	stranica
	10	slika
	7	tablica
	25	literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1.	prof. dr. sc. <i>Mirela Kopjar</i>	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. <i>Anita Pichler</i>	član-mentor
3.	prof. dr. sc. <i>Nela Nedić Tiban</i>	član- komentor
4.	izv. prof. dr. sc. <i>Natalija Velić</i>	zamjena člana

Datum obrane: 28. rujna 2017.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food Technologies
Subdepartment of Food Engineering
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Wine technology

Thesis subject was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its extraordinary session no. III. held on July 3, 2017

Mentor: Anita Pichler, PhD associate prof.

The influence of fermentation vessels on the aromatic profile and color of the Plavac mali wine variety

Josipa Andabak, 374-DI

Summary: Wine is an alcoholic beverage produced by fermentation of a pot or a mullet. It contains hundreds of different chemical compounds that affect their quality of wine with their contents. In addition to the above mentioned compounds, quality and organoleptic properties of wine have a significant influence on the conditions and the storage method. Wine fermentation vessels, made of different materials (inox, wood), have different effects on the retention, or loss of aromatic substances characteristic of certain types of wine. The aroma of wine implies one part of the grapes, one part of the production of mushrooms during the alcoholic fermentation, the part is formed by the aging and nourishment of the young wine. Wine fermentation in stainless steel tanks keeps freshness and youth. By contrast, fermentation of wine in wooden barrels and later deaeration develops much easier volatile flavor and color. This paper examines the influence of fermentation in inox cisterns and wooden barrels on the aroma, color and chemical composition of Plavac mali wine. Research has shown that the use of wooden barrels in the fermentation and stewing process contributes to improved aroma development.

Key words: wine, aroma components, flavonoids, anthocyanins, tannins

Thesis contains:	60	pages
	10	figures
	7	tables
	25	references

Original in: Croatian

Defense committee:

1. Mirela Kopjar, PhD, full prof.	chair person
2. Anita Pichler, PhD, associate prof.	supervisor
3. Nela Nedić Tiban, PhD full prof.	member
4. Natalija Velić, PhD, associate prof.	stand-in

Defense date: September, 28, 2017.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

Zahvaljujem se svojim roditeljima, braći i Filipu na neizmjernoj ljubavi, podršci i pomoći koju su mi pružili kroz svih 5 godina studiranja. Ovo je naš zajednički uspjeh.

Također se zahvaljujem i svojoj mentorici izv. prof. dr.sc. Aniti Pichler na trudu, radu, strpljenju i vremenu koji je uložila svojim stručnim savjetovanjem kako bi ovaj rad bio uspješno napisan.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	4
2.1. GROŽĐE.....	5
Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze.....	5
Mehanička i kemijska svojstva	6
2.2. VINO.....	10
Definicija i podjela vina.....	10
Sorte grožđa za proizvodnju vina	14
2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA	16
Alkoholi	17
Ugljikohidrati	18
Kiseline.....	19
Aldehidi i ketoni.....	21
Esteri	21
Tvari arome.....	22
Enzimi	23
Fenolni spojevi.....	23
Mineralne tvari (pepeo).....	24
Ekstrakt vina	24
Dušične tvari	25
Koloidi vina	25
Proteini	25
2.4. PROIZVODNJA CRNIH VINA.....	26
Proizvodnja crnih vina	26
2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM.....	35
Plinska kromatografija	35
Spektrofotometrija masa.....	38
SPME analiza.....	38
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	40
3.1. ZADATAK.....	41
3.2. MATERIJAL I METODE	41
Vino sorte Plavac mali	41
Kemijska analiza vina	42
Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize	44
4. REZULTATI.....	46
5. RASPRAVA.....	53
6. ZAKLJUČCI	57
7. LITERATURA	59

Popis oznaka, kratica i simbola

SPME	Solid Phase Microextraction (mikroekstrakcija na čvrstoj fazi)
GC	Plinska kromatografija
GC/MS	Plinska kromatografija sa maseno-selektivnim detektorom

1. UVOD

Vino se proizvodi od grožđa koje pripada porodici *Ampelideae*, roda *Vitis*. Zbog svojih fizioloških, kemijskih, senzorskih i drugih svojstava koristi se za potrošnju u svježem neprerađenom stanju, ali i kao sirovina za proizvodnju vina, alkoholnih i bezalkoholnih pića te drugih proizvoda (Moreno i Peinado, 2012.).

Crno vino se dobiva vrenjem masulja - vinifikacijom (najčešće bez peteljkovine). Vrenjem i maceracijom masulja postiže se ekstrakcija boje iz pokožice u groždani sok. Osim tvari boje, izdvajaju se tanini, mineralne tvari i tvari arome, o kojima ovisi kvaliteta crnih vina.

Najzastupljenije sorte crnog grožđa u Hrvatskoj čine: Plavac mali, Plavina, Merlot, Babić, Frankovka, Teran, Cabernet sauvignon, Cabernet franc, Pinot crni, Blatina, Trnjak, Carignan. Tvorba aromatičnih sastojaka je dinamičan proces koji započinje s fazom dozrijevanja, da bi se karakteristična aroma razvila tek po završetku faze zrenja. Tijekom tvorbe aromatičnih sastojaka odvijaju se metaboličke promjene katabolizma, aromatični sastojci nastaju iz određenih biljnih sastojaka i prekursora preko različitih biokemijskih putova, pri čemu pojedini enzimi ili skupine enzima, također, imaju važnu ulogu (Perez i sur., 1992.).

Najvažnije tvari koje daju boju crnim sortama grožđa i crnom vinu su antocijani. Antocijani pripadaju flavonoidnoj grupi polifenola. Važnost antocijana u vinu nije samo u činjenici da su oni glavni nositelji boje crnih vina, nego i pozitivan utjecaj na ljudsko zdravlje koje se temelji na njihovom antioksidacijskom djelovanju u ljudskom organizmu (Skupien i Oszmainski, 2004.).

Polifenoli ukupnom zastupljenošću i brojnošću različitih spojeva, predstavljaju vrlo značajan dio kemijskog sastava grožđa. Preradom grožđa, ovisno o tehnologiji, polifenoli se u većoj ili manjoj mjeri prenose u vino i na taj način sudjeluju u stvaranju kompleksa fizikalno-kemijskih karakteristika koje utječu na kakvoću vina. Danas se, s druge strane, polifenolnim spojevima posvećuje velika pozornost sa stajališta nutritivne i zdravstvene vrijednosti vina, u čemu važno mjesto pripada grupi stilbena.

Vinske posude najčešće dijelimo prema tome od kojeg su materijala proizvedene, pa postoje drvene, betonske, kovinske – od nehrđajućeg čelika (inoks) i plastične.

Osnovni inventar svakog podruma, bio je i ostao drvena, hrastova bačva. Utjecaj drvene hrastove bačve na vino toliki je da često s pravom kažemo: „koliko je bačvi u podrumu, toliko imamo vrsta vina“. Izgradnjom novih podruma, kovinske cisterne zbog svoje ekonomičnosti, iskorištenja prostora u podrumu te otpornosti na kiseline vina i uopće na koroziju, osiguravaju kvalitetni smještaj vina (Maletić i sur., 2008.).

Cilj ovog rada je ispitati je li alkoholna fermentacija, provedena u drvenoj bačvi i inoks posudi, utječe na zadržavanje tvari arome i boje u vinu Plavac mali.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. GROŽĐE

Podrijetlo i botanička svojstva vinove loze

Vinova loza (*Vitis Vinifera*) je jedna od najstarijih kulturnih biljaka čiji živi predak još uvijek egzistira. Predak vinove loze je divlja euroazijska loza *Vitis sylvestris*. Rod *Vitis* je relativno velik, sadržava nekoliko desetaka vrsta od kojih je više od polovice vezano za Sjevernu Ameriku, a ostali, s izuzetkom *Vitis Vinifere*, za istočnu Aziju.

Vitis Vinifera jedini je predstavnik roda *Vitis* na području Europe i zapadne Azije te je još nazivamo i euroazijska loza, a samo pripadnici ove vrste mogu nositi naziv vinova loza.

Vitis sylvestris tzv. šumska loza, rasprostranjena je na širokom području južne Europe i zapadne Azije. Nalazimo je u umjerenom pojasu.

Arheološki i paleobotanički dokazi svjedoče o nazočnosti loze već u vrijeme donje krede, a sigurno u tercijaru. Iz tog vremena postoje fosilni ostaci listova koji se pripisuju nekom od prastarih rodova porodice *Vitaceae*. Međutim, ostaci listova nisu jako pouzdani. Mnogo su važniji nalazi sjemenki iz toga vremena koje se sa sigurnošću mogu povezati sa rodом *Vitis*, a temeljem čega se danas smatra da je ovaj rod do kraja tercijara bio široko rasprostranjen na sjevernoj hemisferi. Odvajanjem kontinenata u tijeku kvartara dolazi do razdvajanja roda *Vitis* na američku i euroazijsku skupinu. Smatra se da je većina vrsta nastala tijekom ledenog doba u vrijeme kvartara kada su manje populacije roda *Vitis* preživjele odvojene i izolirane u područjima zaštićenim od leda. Izolacija i različiti okolinski uvjeti doveli su do evolucije različitih vrsta. Područje hrvatske većim je dijelom prirodno stanište šumske loze *Vitis sylvestris*, pa možemo pretpostaviti da su njezini slatki plodovi bili hrana našim davnim predcima (Maletić i sur., 2008.).

Loza pripada botaničkoj porodici *Ampelideae*. Biljke su iz ove porodice povijuše vitkog stabla koje traže potporanj uz koji se oslanjaju i penju učvršćujući se viticama ili pužu po zemlji.

Cvijet je dvospolan ili jednospolan. Cvjetovi su skupljeni u cvat-grozd.

Porodica *Ampelideae* dijeli se na 10 rodova: *Ampelocissus*, *Pterisanthes*, *Landukia*, *Rhoicissus*, *Cissus* i *Vitis*.

Za vinogradarsku proizvodnju važan je samo rod *Vitis*, koji se dijeli na dva podroda:

- *Muscadinia*, u koji spadaju vrste: *Vitis rotundifolia* i *Vitis munsoniana*;

- *Euvitis*.

Podrod *Euvitis* obuhvaća oko 30 američkih vrsta, oko 40 azijskih vrsta i jednu euroazijsku vrstu - *Vitis vinifera*.

Od azijskih vrsta važna je *Vitis amurans*, koja podnosi vrlo niske temperature (-40°C) i zbog toga je iskorištena u selekciji za dobivanje sorti otpornih na zimu. Neke druge azijske vrste koriste se kao ukrasne biljke.

Od američkih vrsta za vinogradarstvo važne su one koje se same ili u obliku hibrida koriste kao podloge za europsku vinovu lozu. Ovamo spadaju tri najvažnije: *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* i *Vitis Berlandieri*, a u manjoj mjeri još dolaze u obzir *Vitis aestivalis*, *Vitis solonis*, *Vitis cordifolia* i *Vitis cinerea*.

Europsko-azijska vrsta javlja se u dvije varijante:

- *Vitis vinifera* var. *Silvestris*- europska divlja loza. Ima mali grozd, sitne bobice, većinom crne boje;
- *Vitis vinifera* var. *Sativa*- europska, domaća, kulturna loza. Ima većinom dvospolni cvijet, krupne grozdove i velike bobice, sočne, visoke kvalitete. Ovamo spadaju mnogobrojne sorte. Računa se da na svijetu ima oko 500 sorti vinove loze (Licul i Premužić, 1997.).

Mehanička i kemijska svojstva

Grozd se sastoji iz dva dijela – peteljkovine i bobice (jagode), a bobica od sjemenke, mesa i kože.

Peteljkovina

Peteljkovinu grožđa čine peteljka i peteljčica. Dio peteljke koji nosi cvijet, a nakon oplodnje i bobicu (jagodu), zove se peteljčica. Peteljčica se nastavlja u bobici snopom zvanim metlica – četkica. Sastavljenim od lika, a tim putem u bobicu dolaze proizvodi asimilacije. Udio peteljkovine u grozdu iznosi 2-5 posto, ali kemijskim sastavom utječe na kakvoću konačnog proizvoda (vina). Sorte s manjom zastupljenošću peteljke u grožđu imaju veći randman i obratno. Kemijskim sastavom peteljka je slična listu vinove loze. Od mineralnih tvari, polovica sastojaka je kalij. Ako se tijekom prerade peteljkovina ne odvaja, ukupna količina polifenola u budućem vinu, i osobito tanina, bit će povećana i do 25 % u odnosu na vina koja se dobiju preradom masulja bez peteljkovine, i to pod uvjetom da je vrijeme

maceracije oba masulja bilo jednako. U početku berbe peteljkovina je zelena i lako lomljiva. Vino koje se dobiveno od masulja u kojem se nalazi izlomljena zelena - nedozrela peteljkovina dobiva okus na zeleno i gorko. Tijekom berbe peteljkovina odrveni i postaje lakša od zelene peteljkovine (Zoričić, 1996.).

Tablica 1 Kemijski sastav peteljkovine

Sastojak	Sauvignon	Cabernet Sauvignon	Merlot
pH	4,08	4,52	4,45
Slobodne kiseline	88	67	73
Vezane kiseline	102	138	119
Kationi	190	205	183
Vinska kiselina	94	62	29
Jabučna kiseline	80	98	150
Limunska kiselina	6	10	4
Anioni	189	170	183
Polifenoli	5,4	12	15,2

Kožica

Kožica bobice sastoji se od šest do deset slojeva. Na površini kože nalazi se voštani sloj, mašak, koji daje bobici baršunast izgled. Mašak na koži sadrži mikrofloru bobice – mikroorganizme: kvasce i bakterije koje su donijeli vjetar i kukci. Kemijski sastav kože uvelike utječe na kakvoću vina. Sadrži kiseline, polifenole i ostale tvari boje, aromatične tvari, minerale i dr. Daje vinu tvari boje, okusa i mirisa. Buketne tvari mogu se izgubiti tijekom prerade jakom aeracijom. Arome su svojstvene pojedinim sortama, npr. tramincu, muškatu, a redovito su više koncentrirane u koži nego u mesu bobice. Kožica crnih sorti znatno je bogatija polifenolima i bojom nego kožica bijelih sorti. Za preradu crnih sorti grožđa važno je ovo: tvari koje nisu topive u vodi (moštu) nego u alkoholu nastalom tijekom alkoholnog vrenja, izlučuje se tada, tj. tijekom alkoholnog vrenja. Brzom prerdom i odvajanjem kožica od mošta dobiva se bijelo vino od crnih sorti grožđa. To vrijedi samo za

one sorte u kojih tvari boje nisu u soku. Veoma oštećena kožica tijekom prerade utječe na dobivanje veće količine taloga u moštu – vinu (Zoričić, 1996.).

Tablica 2 Kemijski sastav kože

Sastojak	Sauvignon	Cabernet Sauvignon	Merlot
pH	4,15	4,05	3,79
Slobodne kiseline	94	80	55
Vezane kiseline	148	90	65
Kationi	242	170	120
Vinska kiselina	99	79	80
Jabučna kiselina	132	75	40
Limunska kiselina	9	4	3
Anioni	240	158	123
Polifenoli	2,6	6,8	6,4

Sjemenke

U bobici se nalazi od 2 do 7 sjemenki, ali neke su sorte bez njih. Sjemenka se sastoji od masne jezgre, koju okružuje drvena ljuska odjevena taninskom kutikulom. Zato pri vrenju počinje ekstrakcija tanina s omotača (taninske kutikule) koštice u mlado zrno. Sadržaj tanina kreće se od 3 do 6 posto. Isključujući vodu (25-50 posto) i ugljikohidrate – 30 - 35 % (najviše celuloze), u kemijskom sastavu sjemenke ima potom najviše ulja: 12-20 %. Ulje iz sjemenke bobice troši se u proizvodnji kozmetičkih preparata i podmazivanje preciznih strojeva. Tehnološki postupak proizvodnje vina, osobito crnih, dužinom vrenja masulja utječe na ekstrakciju tanina. Mineralnih je tvari (pepela) od 2 do 5 posto. U tijeku prerade grožđa osobita se pozornost, kako smo već spomenuli pri opisu peteljke, mora obratiti primjeni strojeva: valja rabiti takve strojeve koji neće trgati i gnječiti peteljke i sjemenke. Oštete li se sjemenke tijekom vrenja, počinje ekstrakcija tanina, pa dobivamo opora i gorka vina (Zoričić, 1996.).

Tablica 3 Kemijski sastav sjemenke

Sastojak	U 100 g
Voda	25-45
Ugljikohidrati	34-36
Ulje	13-20
Tanini	4-6
Dušični spojevi	4-6,5
Minerali	2-4
Masne kiseline	1

Meso bobice

Meso bobice tvori 75-85 % težine bobice. Sastoji se od velikih stanica s finom celulozno - pektinskom membranom, a unutrašnjost im je ispunjena sokom – moštom. Na membranu stanice otpada 0,3 – 0,5 posto težine bobice, a sve ostalo je mošt (sok). Prema razlikama u količini spomenutih sastojaka, govorimo o više ili manje sočnim sortama.

Meso bobice razlikuje se po strukturi i sastavu, te se prema tome može podijeliti u nekoliko zona:

- središnja zona, blizu sjemenke,
- periferna zona, blizu koštice,
- međuzona.

Sadržaj šećera i vinske kiseline najznačajniji je u međuzoni, a jabučne kiseline rastu od periferije prema središtu bobice. Kemijski sastav mesa: voda 75 do 80 posto, šećer 18 do 25 posto, kiselina (organska) 0,5 posto, mineralne tvari 0,3 – 1 posto, celuloza 0,6 posto (Zoričić, 1996.).

Tablica 4 Kemijski sastav mesa bobice

Sastojak	Sauvignon	Cabernet Sauvignon	Merlot
pH	3,3	3,2	3,22
Slobodne kiseline	123	107	98
Vezane kiseline	43,8	43,6	58,6
Kationi	167	151	157
Vinska kiselina	90	54	97
Jabučna kiselina	79	91	72
Limunska kiselina	2,5	2,9	1,8
Šećeri	240	158	123
Anioni	219	212	220

2.2 VINO

Definicija i podjela vina

Vino je alkoholno piće koje nastaje fermentacijom grožđa, ploda biljke vinove loze (*Vitis Vinifera*), ali se može dobiti i od drugog voća. Spoj biokemijskih osobina grožđa i kvasca, uvjeta u kojima se odvija proces fermentacije i ljudskog utjecaja na cjelokupni proces prerade, fermentacije i kasnije skladištenja rezultira izuzetno kompleksnim sastavom vina koje može sadržavati na desetke tisuća različitih kemijskih spojeva u različitim omjerima. Na kvalitetu i organoleptička svojstva vina, kao i na udio alkohola u vinu, osim podvrste kvasca te kemijskih i fizikalnih parametara procesa fermentacije, a kasnije i skladištenja fermentiranog proizvoda, značajno utječu i karakteristike grožđa kao sirovine za proizvodnju vina (Lytra i sur., 2013.).

Prema razlici vina u kakvoći, možemo ih podijeliti na:

- Stolna vina,
- Stolna vina sa oznakom kontroliranog podrijetla,
- Kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- Vrhunska vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- Predikatna vina,

- Arhivska vina,
- Specijalna vina,
- Pjenušava vina.

Prema sadržaju šećera, vina se dijele na:

- Suha,
- Polusuha,
- Poluslatka,
- Slatka.

Prema boji možemo razlikovati:

- Bijela,
- Ružičasta (opol, rose, ružica, cviček),
- Crna.

Stolno vino - je vino proizvedeno od jedne ili više sorti grožđa vinove loze. Stolno vino ne može nositi oznaku sorte.

Vina s oznakom kontroliranog podrijetla

Oznaku kontroliranog podrijetla mogu dobiti proizvodi s vinogradarskog područja s utvrđenim organoleptičkim i kemijskim svojstvima značajnim za ekološke uvjete položaja i sorte ili grupe sorata grožđa tog područja.

Oznaku kontroliranog podrijetla mogu dobiti sljedeća vina:

- Stolna vina sa oznakom kontroliranog podrijetla,
- Kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- Vrhunska vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- Predikatna vina,
- Specijalna vina,
- Pjenušava vina.

Vina s oznakom kontroliranog podrijetla, pored uvjeta iz Pravilnika, moraju ispunjavati i posebne uvjete o sadržaju alkohola, ekstrakta bez šećera i drugih sastojaka kako je to

utvrđeno rješenjem za označavanje vina s oznakom kontroliranog podrijetla i u elaboratu koji je sastavni dio rješenja.

Stolna vina sa oznakom kontroliranog podrijetla su vina proizvedena od jedne ili više sorti grožđa, od grožđa preporučenih i dopuštenih sorata vinove loze utvrđenih Pravilnikom, koje potječe iz jedne vinogradarske regije. Oznaka kontroliranog podrijetla stolnih vina ustanovljava se za vinogradarsku regiju, podregiju, odnosno vinogorje.

Kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla su vina proizvedena od jedne ili više preporučenih dopuštenih sorata vinove loze utvrđenih Pravilnikom, koje potječu iz jedne vinogradarske podregije s izraženim kvalitetnim organoleptičkim svojstvima značajnim za ekološke uvjete i sorte određene vinogradarske podregije, vinogorja ili položaja čiju oznaku nosi, koje je odnjegovano u toj podregiji. Za proizvodnju kvalitetnih vina s kontroliranim podrijetlom dopušta se randman vina do 70%, računajući nakon prvog pretakanja.

Vrhunska vina s oznakom kontroliranog podrijetla su vina proizvedena od određene sorte ili grupe sorti grožđa koje potječu iz jednog ili više vinogradarskih položaja u okviru jednog vinogorja s osobito izraženim kvalitetnim, specifičnim organoleptičkim i kemijskim svojstvima značajnim za ekološke uvjete položaja i sorte, odnosno grupe sorti grožđa. Ako vino nosi oznaku sorte, mora biti od najmanje 85% grožđa sorte čije ime nosi. Za proizvodnju vrhunskih vina s kontroliranim podrijetlom dopušta se randman od 60%, računajući nakon prvog pretakanja.

Predikatna vina su vina koja u izuzetnim godinama u posebnim uvjetima dozrijevanja, načina berbe i prerade daju posebnu kakvoću, a moraju biti proizvedena samo od grožđa preporučenih sorti za pojedino vinogorje.

Predikatna vina dijelimo na:

- „Kasna berba“ - vino proizvedeno od grožđa koje je ubrano u stanju potpune zrelosti i čiji mošt ima najmanje 49° Oechsle.
- „Izborna berba“ - vino proizvedeno isključivo iz brižno izabranog grožđa, čiji mošt sadrži najmanje 105° Oechsle.
- „Izborna berba bobica“ – vino proizvedeno od prezrelih ili plemenitom plijesni napadnutih bobica, čiji mošt sadrži najmanje 127° Oechsle.

- „Izborna berba prosušenih bobica“ – vino proizvedeno od prosušenih bobica čiji mošt sadrži najmanje 154° Oechsle.
- „Ledeno vino“ – vino proizvedeno od grožđa koje je ubrano od najmanje -7C° i prerađeno u smrznutom stanju, a čiji mošt sadrži najmanje 127° Oechsle.

Arhivska vina su vina koja se u podrumskim uvjetima čuvaju dulje od njihovog optimalnog zrenja, a najmanje pet godina od dana prerade grožđa u vino, od čega najmanje tri godine u boci.

Specijalna vina su vina dobivena posebnim načinom prerade grožđa, mošta ili vina bez dodatka ili s dodatkom određene količine vinskog alkohola, vinskog destilata, šećera, koncentriranog mošta i mirisavih ili drugih dopuštenih tvari biljnog podrijetla, Specijalna vina su:

- Desertno vino,
- Likersko vino,
- Aromatizirano vino.

Pjenušava vina su vina koja uz određeno dopuštene sastojke sadrže i povećanu količinu ugljičnog dioksida, zbog kojeg se pri otvaranju boce razvija obilna pjena. U pjenušava vina ubrajaju se:

- Prirodno pjenušava vina,
- Prirodno biser vino,
- Gazirano pjenušava vina.

Stvarni sadržaj alkohola u pjenušavom vinu ne smije biti manji od 9,5 volumnih %, a ukupni sadržaj alkohola ne smije biti veći od 17,5 volumnih %.

Prirodno pjenušavo vino i prirodno biser vino su vina čiji je sadržaj i pritisak ugljikovog dioksida u boci proizveden isključivo naknadnim vrenjem šećera u vinu.

Naknadno vrenje se postiže:

- Klasičnom metodom vrenja u boci,
- Metodom vrenja u tankovima.

Prirodno pjenušavo vino je vino koje je u boci od 20 °C ima tlak od najmanje 3,5 bara, a u bocama od 0,25 L najmanji pritisak je 3,0 bara, dok najveći tlak ne smije biti veći od 7,0 bara.

Prirodno biser vino je prirodno pjenušavo vino koje pri 20 °C u boci ima tlak najmanje 1,0 do najviše 2,5 bara.

Gazirano pjenušavo vino je vino kome je prilikom punjenja u boce dodan ugljikov dioksid.

Suho vino sadrži u pravilu najviše 4 g/l neprevrelog šećera. Suho vino s visokim prirodnim kiselinama može imati i veću količinu neprevrelog šećera, koja može biti jednaka sadržaju vinskih kiselina (g/l), povećan za 2 g/l, a najviše može imati 9 g/l.

Polusuho vino u pravilu sadrži od 4 do 12 g/l neprevrelog šećera. Vino s visokim sadržajem kiselina može imati i veću količinu neprevrelog šećera, koja može biti jednaka ukupnom sadržaju kiselina (izraženih kao vinska kiselina u g/l), povećan za 10 g/l, a najviše može imati 18 g/l.

Poluslatko vino sadrži u pravilu od 12 do 50 g/l neprevrelog šećera.

Slatko vino sadrži preko 50 g/l neprevrelog šećera (Presečan S., 2004.).

Sorte grožđa za proizvodnju vina

Klasifikacija sorti vinove loze se provodi prema sljedećim obilježjima:

- morfološki - (boji, obliku, veličini bobice, obliku grozda i lista),
- fiziološki - (prema vremenu dozrijevanja),
- gospodarski,
- prema geografskom podrijetlu (sorte iz zapadne Europe, sorte iz crnomorskog bazena, sorte iz Azije i istočnih zemalja).

Klasifikacija prema fiziološkim obilježjima:

- vrlo rane sorte,
- rane sorte,
- srednje kasne sorte,
- kasne sorte,
- vrlo kasne sorte.

Klasifikacija prema gospodarskim obilježjima:

Prema namjeni dijele se:

- vinske sorte,
- stolne sorte,
- sorte za sušenje,
- sorte za ostale namjene (proizvodnja destilata, sok).

Vinske sorte

- visokokvalitetne sorte za proizvodnju vrhunskih vina,
- kvalitetne sorte za proizvodnju kvalitetnih vina na izuzetnim položajima,
- sorte niske kakvoće za proizvodnju stolnih vina.

Podjela vinskih sorti

- **preporučene sorte**, od kojih se preradom mogu dobiti vrhunska i kvalitetna vina s oznakom kontroliranog podrijetla,
- **dopuštene sorte**, koje se u određenim vinogorjima posebno ne ističu u proizvodnji vina, ali ne narušavaju njegovu kvalitetu, već ga u određenim agroekološkim uvjetima dopunjuju.
- **privremeno dopuštene sorte**, koje su zatečene u pojedinim vinogorjima na dan stupanja na snagu Pravilnika, a zbog svojih organoleptičkih i gospodarskih svojstava nisu predviđene Pravilnikom. Njihov uzgoj je dopušten samo do njihovog biološkog iskorištenja.

Najvažnije vinske sorte u Hrvatskoj:**Kontinentalna Hrvatska:****Bijela vina:**

- CHARDONNAY BIJELI
- RIZLING RAJNSKI BIJELI
- TRAMINAC MIRISAVI
- TRAMINAC CRVENI
- PINOT BIJELI
- PINOT SIVI

- SAUVIGNON BIJELI
- PLEMENKA BIJELA

Crna vina

- FRANKOVKA CRNA
- CABERNET SAUVIGNON CRNI
- PORTUGIZAC CRNI
- PINOT CRNI
- ZWEIGELT
- MERLOT CRNI

Primorska Hrvatska**Crna vina**

- PLAVAC MALI
- BABIĆ CRNI
- MERLOT CRNI
- TERAN CRNI
- CABERNET SAUVIGNON CRNI
- PLAVINA CRNA
- CRLJENAK

Bijela vina

- MALVAZIJA ISTARSKA BIJELA
- POŠIP BIJELI
- GRK BIJELI
- MARAŠTINA BIJELA
- ŽILAVKA BIJELA
- KUJUNĐUŠA BIJELA
- ŽLAHTINA BIJELA

2.3. KEMIJSKI SASTAV VINA

Kemijski sastav vina raznovrstan je s obzirom na velik broj kemijskih komponenti koje prema kemijskoj građi pripadaju različitim grupama spojeva. Jabučna vina se s obzirom na kemijski sastav klasificiraju prema kiselosti, udjelu tanina, fenolnim tvarima te šećerima. Zakon o vinu određuje granične vrijednosti pojedinih sastojaka i njihove odnose, a rezultati dobiveni kemijskim analizama moraju biti u skladu s istima (Zoričić, 1996.).

Alkoholi

Vino sadrži velik broj različitih alkohola. Etilni alkohol (etanol) nastaje alkoholnom fermentacijom prirodnih šećera, a koliko će nastati etilnog alkohola ovisi o udjelu šećera u grožđu i moštu. U iznimnim slučajevima, prilikom popravljivanja mošta, može se dodavati i saharoza. Dopušteni udio alkohola u vinu, kod stolnih vina, se kreće od 8.5% vol. do 15% vol. kod kvalitetnih i vrhunskih vina (Vrdoljak, 2009).

Metilni alkohol – metanol (jednovalentni alkohol) nije produkt fermentacije. U vinu se javlja kao nusprodukt, a nastaje hidrolizom pektinskih tvari, s obzirom da se pektinske tvari nalaze u čvrstim dijelovima grožđa (sjemenka, peteljkovina). Od sorata grožđa bogatih pektinom u konačnici i njihova vina imaju više udjele metanola. Crno vino sadrži više metanola u odnosu na bijela jer je tehnologija proizvodnje crnog vina fermentacija na masulju, pa otuda i više pektina u moštu crnih sorata grožđa. Alkohol metanol je toksičan i oksidacijom može preći u formaldehid i mravlju kiselinu koji su toksični za centralni živčani sustav. Vino proizvedeno od plemenitih sorti grožđa nikad nema metanola preko kritičnog sadržaja od 350 mg/kg. Međutim, u vinima proizvedenim od hibridnih sorti grožđa sadrže visoki udio metanola pa su toksična. Stoga nije dopušteno proizvoditi vino od hibridnih sorti grožđa.

Etanol u otopini s metanolom smanjuje mu otrovnost (što je slučaj s vinom.) Bijelo ga vino sadrži 40-140 mg/l, a crna 120-200 mg/l (Horvat, 2010; Zoričić, 1996.).

Viši alkoholi (jendovalentni)

Nastaju u procesu vrenja, a najveći dio nastaje iz aminokiselina, njihovom izmjenom. (dezaminacija, dekarboksilacija), uz pomoć kvasca. Nastajanje ovisi o vrsti i sastavu mošta te o načinu proticanja vrenja. Najviše su zastupljeni: izoamilni, amilni i izobutilni koji čine 90 % od ukupnih viših alkohola. Bijela vina sadrže 200-400 mg/l, a crna 280-480 mg/l. Viši alkoholi javljaju se u vinima u minimalnim količinama (150 – 550 mg/l), te s kiselinama daju estere koji poboljšavaju kakvoću vina. Koncentracija viših alkohola ovisi o sorti grožđa, vrsti kvasca te uvjetima prerade. Najznačajniji viši alkoholi su izobutanol, amilalkohol, izoamilalkohol, a najzastupljeniji od aromatskih alkohola prisutnih u vinu, najznačajniji je fenil-etanol, koji ujedno utječe na bouquet vina (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996.).

Od viševalentnih alkohola u vinu, posebno se može izvojiti glicerol. Glicerol je poliol i u svojoj kemijskoj strukturi sadrži 3 C atoma i 3 hidroksilne skupine. Proizvode ga kvasci

alkoholnom fermentacijom. Glicerol u vinu utječe na okus vina te mu daje osjećaj punoće i blagosti, te pojačava slatkoću vina (Horvat, 2010.).

Ugljikohidrati

Najraširenija skupina organskih spojeva u živom svijetu su ugljikohidrati. Šećer je osnovni sastojak grožđa. Na osnovu njega i kiseline određuje se tehnološka vrijednost grožđa. Pod utjecajem sunčeve energije, ugljikovog dioksida i klorofila u listu vinove loze u zelenoj bobici stvara se škrob, a daljnjim cijepanjem škroba stvara se šećer. Najjači proces fotosinteze je u lišću. Ugljikohidrati su sačinjeni od ugljika, kisika i vodika, a njihova opća formula je $C_n(H_2O)_m$.

Udio šećera u grožđu i moštu ovisi o sorti, okolinskim i vremenskim uvjetima. Visokokvalitetne sorte mogu imati od 22 do 28% šećera, dok se kod kvalitetnih sorti količina šećera kreće od 18 do 22%. Kvasci brže i lakše previru glukozu nego fruktozu do etanola, CO_2 i drugih spojeva (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996.). Razni su oblici u kojima se prirodni ugljikohidrati postoje, a većina njih u obliku je oligosaharida ili polisaharida (polimera). Kemijski sastav svih ugljikohidrata je isti, međutim možemo napraviti podjelu istih prema složenosti u građi molekule. Dijelimo ih na (Stričević i Sever, 2001.):

- monosaharide (glukoza, fruktoza),
- disaharide (saharoza, maltoza, laktoza),
- polisaharide (škrob, amiloza, amilopektin, celuloza).

U grožđu, moštu i vinu, od monosaharida najzastupljenije su heksoze, D-glukoza i D-fruktoza, te manjim dijelom pentoze, L-arabinoza i D-ksiloza. Zrenjem voća dolazi do rasta udjela fruktoze u odnosu na glukozu. U zelenoj bobici ima svega $\frac{1}{2}$ fruktoze i $\frac{3}{4}$ glukoze. U tijeku razvoja bobice zastupljena je u većoj količini glukoza (groždani) u odnosu na fruktozu (voćni). Međutim, pri kraju sazrijevanja, taj se odnos postupno mijenja u korist fruktoze, a u punoj zrelosti količina oba šećera podjednaka je, jedino kod prezrelog grožđa fruktoza je nešto viša. Količina šećera u zreлом grožđu kreće se u prosjeku 13-25 %, najčešće 17-22 %. Od oligosaharida u grožđu prisutni su saharoza, maltoza, laktoza, rafinoza i trehaloza, ali je samo saharoza bitan sastojak, dok ostali nemaju utjecaj na kakvoću vina.

Od visokomolekularnih polisaharida u grožđu su prisutni pektini, škrob, glikogen, smole i sluzave tvari. Većina ovih tvari otežava taloženje i bistrenje vina.

Određivanje šećera u grožđu i moštu provodi se moštnim vagama (Oechslova i Baboova ili Klosterneuburška), te refraktometrom (Horvat, 2010; Zoričić, 1996.).

Kiseline

Poslije šećera, organske kiseline su najvažniji sastojak mošta. Kiselost uzrokuju kiseline i njihove kisele soli. Važnije kiseline mošta su: vinska, jabučna, limunska, jantarna.

Kiseli okus mošta potječe od slobodnih i djelomično vezanih organskih kiselina, a nastaju nepotpunom oksidacijom šećera u bobicama grožđa, te od tuda preko mošta prelaze u vino. Samo neke od ovih kiselina nastaju u tijeku vrenja. Vino je redovito manje kiselo od mošta, jer se u procesu vrenja i dozrijevanja vina smanjuju i mijenjaju pojedine kiseline.

Ukupna kiselina (izražena kao vinska) u vinu kreće se 4,5-12 g/l. U vinu se nalaze nehlapljive i hlapljive kiseline. Veći dio nehlapljivih kiselina potječe iz grožđa, a samo manji dio nastaje u vinu.

Iz grožđa u vino prelaze: vinska, jabučna, limunska, jantarna i oksalna.

Vinske kiseline, uz jabučnu, u moštu ima najviše (Zoričić, 1996.).

Kiseline u vinu su organske (hlapljive i nehlapljive), anorganske kiseline i soli različitih kiselina. Organske kiseline u vinu mogu biti podrijetlom iz (Horvat, 2010.):

- grožđa odnosno mošta (vinska, jabučna, limunska, askorbinska, oksalna, glikolna, glukonska),
- kao produkti alkoholne fermentacije (piruvična, mliječna, octena, sukcijska, oksalna i fumarna kiselina),
- mliječna kiselina nastala malolaktičkom fermentacijom iz jabučne kiseline,
- kiseline nastale razvojem sive plijesni na grožđu.

Organske kiseline koje se nalaze u vinu su vrlo važne za organoleptička svojstva vina, posebno kod bijelih vina i za fizikalno-kemijsku i mikrobiološku ispravnost vina (Horvat, 2010.).

Metabolizam kvasaca i octeno kiselim vrenjem nastaju hlapljive kiseline. Ovisno o soju kvasca ovisi i količina kiselina koja će nastati. Selekcionirani kvasci produciraju manje hlapljivih kiselina. Temperatura fermentacije isto tako ima značajan utjecaj na tvorbu hlapljivih kiselina, pa tako pri nižim temperaturama fermentacije nastaje manje hlapljivih kiselina.

Octena kiselina je najzastupljenija od hlapljivih kiselina u vinu. Octena kiselina nastaje oksidacijom alkohola, djelovanjem octenih bakterija u aerobnim uvjetima, te djelovanjem kvasaca u anaerobnim uvjetima tijekom alkoholne fermentacije. Pojava octene kiseline karakteristična je za bolesna vina. Međutim, ukoliko se octena kiselina nalazi u manjim koncentracijama, do 0.3 g/l, ona nema štetno djelovanje već pozitivno utječe na okus vina. Vino može sadržavati i sljedeće kiseline: mravlju, propionsku, butirnu, kaprionsku, kaprilnu, kaprinsku i laurinsku kiselinu.

Od nehlapljivih kiselina u vinu treba izdvojiti: vinsku, jabučnu, mliječnu, jantarnu i limunsku kiselinu. Vinska kiselina daje osnovni okus kiselosti vina, a u njegovom prisustvu ovisi pH vina. U vinu je ima 0,5-5,5 g/l (u moštu 1-8 g/l) 1/3 do 1/4 ukupne kiseline je vinska. Vinska se kiselina jednim dijelom istaloži u obliku soli (primarni kalijev tartarat i sekundarni kalcijev tartarat). Nalazi se u zelenim dijelovima vinove loze. Vinska kiselina je najjača i ključna kiselina, stoga najviše utječe na pH-vrijednost i kiselost vina. Dozrijevanjem grožđa koncentracija jabučne kiseline opada. Pad koncentracije jabučne kiseline povezan je sa temperaturom zraka. Iz tog razloga, jabučna kiselina zastupljenija je u vinima sjevernih krajeva i u godinama s nižim temperaturama. Veće koncentracije ove kiseline pridonosi zeljastom, neharmoničnom okusu vina. Mliječno – kiselim vrenjem (malolaktičkim vrenjem) jabučna kiselina pretvara se u slabiju (manje kiselu) mliječnu kiselinu.

Mliječne kiseline nema u grožđu pa tako ni u moštu. Ona nastaje nakon vrenja, razgradnjom jabučne kiseline. Degradacijom - raspadanjem jabučne kiseline mijenja se kiselost vina, jer od jabučne kiseline koja je dva i pol puta slabija od vinske, nastaje mliječna kiselina, koja je sedam puta slabija od vinske. Mliječna kiselina je blaga, ugodna kiselina, a time utječe na organoleptička svojstva vina, pa je tako vino blago kiselkasto do kiselo, za razliku od onog kod kojeg je zaostala jabučna kiselina.

Jantarna kiselina sekundarni je produkt alkoholne fermentacije iz acetaldehida. Prisutna je u neznatnim količinama, a vinu daje gorčinu.

Ukoliko dođe do previranja šećera djelovanjem plijesni u vinu nastaje limunska kiselina.

Anorganske kiseline prisutne u vinu najčešće se javljaju u obliku kalijevih i kalcijevih soli (Horvat, 2010; Zoričić, 1996.).

Aldehidi i ketoni

Aldehidi i ketoni reaktivni su spojevi. Vežu se sa sumporastom kiselinom i njenim solim tvoreći lako topljive kiseline. Ovi spojevi veoma su značajni jer tvore karakterističnu aromu i bouquet vina, a time i organoleptička svojstva vina. Aldehidi u čistom obliku daju oštar miris, koji podsjeća na voće. Najintenzivniji miris daje heptanal. Alkoholnim vrenjem nastaju novi aldehidi, uglavnom acetaldehid na koji otpada 90%. Acetaldehid je međuproizvod koji nastaje u razgradnju šećera alkoholnim vrenjem. Veći dio ovako stvorenog acetaldehida prelazi u etilni alkohol. Količina acetaldehida na kraju je tijesno vezana za SO₂, koji je dodan u moštu. Prema tome, različite su količine acetaldehida u vinu, 15-390 mg/l u nesumporenom, a 100-150 mg/l u sumporenom. Acetaldehid ima specifičan miris, ako je u slobodnom stanju, taj se miris prenosi na vino. Velika količina acetaldehida, daje vinu miris na oksidiranošću, starost. Furfurol nastaje u vinu ako ga grijemo, a najviše se stvara prilikom destilacije vina. Alifatskih aldehida u vinu ima vrlo malo, te daju ugodan voćni miris (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996.).

Ketoni su u moštu i vinu slabo zastupljeni. Najzastupljeniji je aceton, potom acetoin i diacetil. Većina ima miris svježeg maslaca, što u većim količinama može dati nijansu užglosti (Vrdoljak, 2009.).

Esteri

Nastaju reakcijom između alkohola i kiselina. Postoje kiseli i neutralni esteri. Kiseli esteri nastaju uglavnom kemijskom reakcijom (esterifikacija) za vrijeme čuvanja i starenja vina. Imaju voćni miris. Neutralni nastaju u tijeku alkoholnog vrenja radom kvasaca pa ih nazivamo fiziološkim, a nastaju i prilikom kvarenja vina. Vino sadrži estere sljedećih kiselina: octene, mliječne i jantarne. Ove tri kiseline se najjače esterificiraju. Miris starog vina je posljedica esterifikacije octene kiseline i etilnog alkohola. Esteri kiselina i viših alkohola sudjeluju u stvaranju bukea vina. Od posebne važnosti je etil ester octene kiseline koji u manjoj količini nastaje alkoholnom fermentacijom utjecaja kvasca. Veća količina nastaje radom octenih bakterija. Od stvorene količine etil estera, a ne količine octene kiseline ovisi pojava intenziteta mirisa octenosti. To su: etil acetat, propil acetat, izopropil acetat, izobutil acetat i izoamil acetat. Od estera masnih kiselina u vinu su zastupljeni: etil propionat, etil valerijat, etil heksanoat, etil oktanoat i etil dekanat (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996.).

Tvari arome

Vinova loza, odnosno grožđe kao plod loze sadrži u sebi aromatične – buketne tvari. Ovih tvari ima najviše u kožici bobice, a kod nekih sorata i u lišću. Aromatične tvari iz kože prelaze u mošt, a zatim i u vino. Aromatične tvari sačinjavaju eterična ulja u kombinaciji s esterima koji prelaskom u vino daju svojstven miris koji nazivamo primarnom aromom. Jačina primarne arome u zavisnosti je o stanju zrelosti, zdravstvenom stanju grožđa te utjecaju klime tla i položaja vinograda. Aromatične tvari su upravo one koje diktiraju – određuju jačinu sekundarne arome (buke vrenja) i tercijarnu aromu (buke zrenja) (Zoričić, 1996.). Aromu vina čine različiti hlapivi sastojci koji se u istima nalaze u malim koncentracijama reda veličine od nekoliko mg/L do nekoliko ng/L. Aroma vina je kompleksna i formira se tijekom zrenja, složenim kemijskim, biokemijskim i mikrobiloškim procesima (Vrdoljak, 2009.). Aroma vina naziva se bouquet. To su različite tvari arome koje pripadaju velikom broju različitih kemijskih spojeva: hlapive karboksilne kiseline, alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eterična ulja, više masne kiseline, terpeni, te tvari slične smolama i voskovima.

Aroma vina potječe (Vrdoljak, 2009.):

- Iz grožđa ovisno o sorti grožđa, klimatskim uvjetima i agrotehničkim mjerama uzgoja,
- Biokemijskim reakcijama (oksidacija, hidroliza) tijekom separacije mošta i maceracijom,
- Alkoholnom fermentacijom, produkcijom kvasaca nastaje karakteristična aroma; malolaktičkom fermentacijom,
- Kemijskim i enzimatskim reakcijama poslije fermentacije tijekom dozrijevanja i starenja vina u bačvama, cisternama i bocama nakon punjenja.

Najvažniji hlapljivi spojevi primarne arome grožđa su monoterpeni: geraniol, linalol, nerol, α -terpineol, citronelol i hotrineol. Ovi spojevi su odgovorni za voćne i cvjetne mirise pojedinih sorti grožđa. Terpeni mogu biti slobodni u hlapljivom obliku ili vezani za šećere – glikozidi. Sve tvari arome se određuju instrumentalnim metodama: tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinska kromatografija (GC), analitičkim metodama i senzorskim ocjenjivanjem (Vrdoljak, 2009.).

Enzimi

Enzimi u moštu i vinu, kao organski biokatalizatori, imaju ulogu kao pokretača kemijskih reakcija koje se odvijaju tijekom vinifikacije, taloženja i bistrenja vina, odležavanja, starenja i njege vina. Iz tog razloga značajni su za razvoj sekundarnog bouquet-a vina.

U vinu se nalazi veći broj enzima, a među njima najvažniju ulogu imaju sljedeći: saharaza (invertaza), tanaza, pektaza i katalaza. Saharaza hidrolizira saharozu na glukozu i fruktozu. Tanaza, koja u vino dopijeva iz plijesni trulog grožđa, katalizira tvorbu taninskih tvari. Pektaza je značajna za bistrenje vina, a hidrolizira pektinske tvari na metanol i poligalakturonsku kiselinu. Katalaza ubrzava oslobađanje kisika iz vodikovog peroksida i ostalih peroksidnih spojeva, te na taj način toksično djelovanje ovih spojeva ne dolazi do izražaja (Vrdoljak, 2009.).

Fenolni spojevi

Fenolni spojevi su široka i složena grupa spojeva, posebno važni za svojstva i kakvoću crnih vina. Također su važni i za bijela vina, ali su prisutni u znatno nižim koncentracijama. Po broju hidroksilnih grupa dijele se na mono, di, tri i polifenole. U prirodi se vežu sa šećerima tvoreći glikozide. U mošt fenoli dolaze iz kože, sjemenke i soka grožđa kao i peteljke (ovisno o načinu prerade grožđa). Količina ukupnih fenola u grožđu je veća nego u vinu. Tradicionalnim postupcima vinifikacije ekstrahira se najviše 60 % fenola od ukupno prisutnih u grožđu. Zahvaljujući bogatstvu polifenola vino je uvršteno u prehrambene proizvode učinkovitog antivirusnog i antibaktericidnog djelovanja. U grožđu i moštu javljaju se dvije osnovne grupe polifenola: flavonoidi i neflavonoidi. Flavonoidi primarno potječu iz kože, sjemenke i peteljke grožđa i toj skupini pripadaju: flavan-3-oli, flavonoli, antocijani i tanini. Flavonoli i antocijani uglavnom dolaze iz kože, dok flavan -3- oli potječu iz sjemenke i peteljke. Neflavonoidni spojevi se nalaze u mesu bobice grožđa i tu spadaju: derivati hidroksicimetne kiseline, hidroksibenzojeve kiseline i stilbeni. Crno grožđe sadrži oko 5500 mg/l ukupnih fenola (izraženo kao galna kiselina), a najviše ih se nalazi u sjemenci (46 – 69 %), u koži oko 50 %, u soku 5 % i u mesu bobice 1 %. Njihova koncentracija u grožđu značajno varira, što ovisi i kultivaru te klimatskim i agrotehničkim uvjetima. Sadržaj tanina i antocijana se povećava u razdoblju od šare do zrelosti. Povećanje sadržaja fenola vezano je za rast bobice, dok prezrelo i presušeno grožđe sadrži manje fenola. Kako grožđe dozrijeva, tako dolazi do polimerizacije fenola pri čemu nastaju po okusu mekši i manje

trpkli fenoli. Sastav fenolnih spojeva je važan faktor za određivanje vremena berbe crnog grožđa (Moreno i Peinado, 2012.).

Mineralne tvari (pepeo)

Mineralne tvari u sirovinu dospijevaju iz zemljišta te čine sastavni dio iste, dok manji dio mineralnih tvari dolazi u vino prilikom prerade grožđa i njege vina. Sadržaj mineralnih materijala u moštu kreće se od 2 do 5 g na litru, a u moštu crnih sorata i više. U bobici grožđa najviše su zastupljeni: kalij, kalcij, magnezij, fosfor (Zoričić, 2008.; 1996.). Postupkom isparavanja vode i potpunog spaljivanja suhe tvari vrši se određivanje pepela u namirnici. Pepeo čine anorganske tvari vina koje ulaze u sastav vina. Pepeo u vinu sastoji se od kalcijevih, kalijevih i magnezijevih soli sumporne, fosfatne i karbonatne kiseline, te od tragova fluora, bakra, željeza, mangana i drugih elemenata. Bolju aromu vina i bouquet, te jače izražene sortne karakteristike grožđa imaju vina sa većom količinom mikroelemenata (Fe, Mn, Zn, Co, Ni) (Vrdoljak, 2009.). Količina pepela u vinu ovisi o sorti vinove loze, kakvoći i zrelosti grožđa, sastavu tla, mikro i makroklimatskim uvjetima te tehnologiji prerade grožđa u vino. Crna vina sadrže veće količine pepela jer se tijekom fermentacije masulja ekstrahiraju veće količine mineralnih tvari iz čvrstih dijelova grožđa (Vrdoljak, 2009.). Sadržaj mineralnih tvari u svježem voću je od 0,3 – 0,8 %.

Ekstrakt vina

Ukupni suhi ekstrakt ili ukupna suha tvar vina je skup svih organskih i mineralnih tvari sadržanih u vinu koje nisu hlapljive pod specifičnim fizikalnim uvjetima. U ekstrakt spadaju ugljikohidrati, nehlapive kiseline (vinska, mliječna, jabučna), mineralne tvari, glicerol, butilen, glikol, tanini i tvari boje (Vrdoljak, 2009.).

Ekstrakt u vinu može biti:

- Ukupni suhi ekstrakt kojeg čine svi sastojci vina koji nisu hlapivi pod specifičnim fizikalnim uvjetima,
- Nereducirani ekstrakt bez šećera, dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera u vinu,
- Reducirajući ekstrakt, dobije se kada se od ukupnog suhog ekstrakta oduzme sadržaj ukupnih šećera umanjen za 1 g ako je sadržaj šećera preko 1 g/l (Vrdoljak, 2009.).

Vina s malim sadržajem alkohola, a visokim sadržajem ekstrakta, nazivamo teška. Blaga su ona vina koja imaju srednji sadržaj ekstrakta, a i srednje su jaka. Mekani okus imaju vina s većim sadržajem glicerola. Prazna ili vodnjena vina jesu vina alkoholno i ekstraktno siromašna (Zoričić, 1996.).

Dušične tvari

Dušični spojevi u vino dolaze iz grožđa. Njihov sadržaj u grožđu, moštu i vinu, ovisi o sorti vinove loze, zatim od stupnju zrelosti, tlu i gnojidbi. Najveći sadržaj dušičnih tvari u bobici nalazi se u njezinim površinskim dijelovima kao i u sjemenkama. Samotok sadrži manje dušičnih tvari u odnosu na prešavinu (Zoričić, 1996.). Dušične tvari mogu utjecati na boju, aromu, bistroću i postojanost vina, iako se u vinu nalaze u malim količinama. Ukoliko se nalaze u većim količinama, mogu uzrokovati zamućenje vina, a k tome su i dobar izvor dušika bakterijama uzročnicima kvarenja vina. Spojevi sa dušikom se u moštu i vinu nalaze kao organski i anorganski spojevi. Mikroorganizmi u moštu koriste dušične tvari, te ih ugrađuju u svoje stanice tijekom rasta. Sukladno tome vino sadrži manje manje dušika što je posljedica ugradnje aminokiselinskog dušika u stanice kvasaca za fermentaciju. Mošt dobiven kontinuiranim prešanjem sadrži manje ukupnog dušika jer se proteini vežu i talože s taninskim tvarima (Vrdoljak, 2009.).

Koloidi vina

Koloidi su sluzave tvari vina, a čine ih proteini i pektinske tvari. Veličina čestica koloida je između 1–100 µm. Prisutnost koloida u vinu uzrokuje povećanje viskoznosti, opalesciranje, zamućenje vina i pojavu kataforeze (čestice posjeduju istovrstan naboj), te na taj način nepovoljno utječu na organoleptička svojstva vina. Koloidne tvari dijele se na liofilne i liofobne. Liofilni koloidi imaju sposobnost vezivanja vode i povećanja kiselosti vina. Liofobni koloidi su jako osjetljivi na elektrolite, pri malim promjenama pH dolazi do njihove koagulacije. Uglavnom sadrže kompleksne spojeve željeza, fosfora i bakra (Vrdoljak, 2009.).

Proteini

Proteini su makromolekule građene od aminokiselina, a imaju važnu strukturalnu i funkcionalnu ulogu u svim živim organizmima. Kada su uz aminokiseline vezani šećeri i masti, onda dobijemo proteine. Proteini u vinu sudjeluju s 10% u odnosu na ukupni dušik. Mutnoća vina uzrokovana je i njihovim prisustvom. Proteini su vrlo nestabilni spojevi, a

talože se sa taninima. Proteini u vinu potječu iz grožđa i iz kvasaca. Odumiranjem kvasaca proteini prelaze u vino. Koagulirani proteini su (-) nabijene čestice. Proteini u vinu, posebno u bijelom vinu su nestabilni, te se spontano sporo talože. Nestabilnost mladih bijelih vina potječe od sadržaja veće količine koaguliranih proteina. Količina koaguliranih proteina u crnim vinima manji je problem iz razloga što se isti talože sa taninima. Razlog tomu je veći udio tanina u crnim vinima za razliku od udjela u bijelim vinima (Vrdoljak, 2009; Zoričić, 1996.).

2.4. PROIZVODNJA CRNIH VINA

Proizvodnja crnih vina

Crna vina dobijaju se paralelnim postupkom maceracije i alkoholne fermentacije mošta. Osnovni cilj ove faze je izdvajanje bojila iz stanica kože u groždani sok. Izluživanje boja postiže se vrenjem i maceracijom masulja. U vinarskoj praksi najčešće se primjenjuje klasična vinifikacija. Klasična vinifikacija crnih vina provodi se maceracijom krutih dijelova grozda (kožice, sjemenke i eventualno peteljke) u fazi fermentacije mošta. Postoje i drugi načini dobivanja crnog vina, npr. termovinifikacija i karbonska maceracija. Kako su crveni pigmenti smješteni u pravilu, samo u kožici bobice, crno se grožđe može vinificirati i na „bijelo“ ili rose vino, odvajanjem samotoka laganim prešanjem. Tako se u Francuskoj izraz „blanc de blanc“ koristi da bi se razlikovala bijela vina dobivena od bijelih sorata, od bijelih vina dobivenih od obojenih sorata (npr. u proizvodnji pjenušavih vina). Osim bojila izdvaja se tanin, ekstrakt i aroma, pri čemu važnu ulogu ima sorta i trajanje vrenja. Ovisno o karakteristikama grožđa i tipa vina kojeg želimo proizvesti, maceracija može biti kraća ili duža. Tako se za mlada crna vina koja su namijenjena brzom potrošnji (poželjno je da takva vina imaju finu aromu i voćnost te manju koncentraciju polifenolnih sastojaka) provodi kratka maceracija, dok se za vina namijenjena starenju (moraju imati veću količinu tanina - bolja struktura vina) provodi duža maceracija.

Uobičajene faze u vinifikaciji crnih vina su:

- muljanje - runjanje grožđa,
- sumporenje (sulfitiranje) masulja,
- maceracija i alkoholna fermentacija,
- odvajanje mošta od taloga ocjeđivanjem i prešanjem,

- završna alkoholna i eventualno malolaktična fermentacija (Kontrec, 2017.).

Muljanje – runjanje grožđa

Kod prerade crnog grožđa u vino, vrenje se obavlja u prisustvu čvrstih dijelova grožđa, soka i bobica zajedno. Boja crnih vina potječe iz kože boba crnog grožđa te je maceracija obavezan postupak u proizvodnji.

Cilj muljanja je odvajanje bobice od peteljke jer peteljka sadrži tanine koji daju vinu trpak i gorak okus te na taj način može u većoj ili manjoj mjeri utjecati na kvalitetu mošta. Uklanjanje peteljkovine vrši se u većim pogonima specijalnim strojevima – runjačama, koje su obično vezane za muljaču. Najvažniji efekt runjanja odnosi se na promjenu koncentracije tanina. Iz istraživanja proizlazi da 54% ukupnih tanina dolazi iz pokožice, 25% iz sjemenke i 21% iz peteljkovine.

Cilj muljanja je da se grožđe zgnječi kako bi se lakše odvojila tekućina od krute faze. Najstariji i najprimitivniji način muljanja grožđa provodio se gaženjem grožđa nogama. Danas se u tu svrhu upotrebljavaju motorni ili ručni strojevi tzv. muljače (za odvajanje groždanog soka od kože i sjemenke) (Jakobi, 2015.). Nakon muljanja i runjanja mošt se prebacuje u posude za fermentaciju, uz prethodno manje sumporenje mošta. Time se štiti crni masulj od oksidacije (crno grožđe je manje podložno oksidaciji), a veće količine se dodaju kada je grožđe bolesno ili loše kvalitete. U posudama koje punimo moramo ostaviti prazan prostor od oko 20% volumena posude. To je zbog toga jer se fermentacijom stvara plin (CO₂) koji se diže prema gore, dižući pri tome i zadržavajući klobuk (drop - pokožice bobica) na gornjoj strani posude. Drop igra važnu ulogu u samom tijeku maceracije jer otpušta svoje sastojke (antocijane i tanine) i pospješuje fermentaciju (Kontrec, 2017.).

Sumporenje (sulfitiranje) masulja

Dobiveni masulj, kojemu je tijekom muljanja odvojena peteljkovina, sumpori se na 1h sa 10 – 15 g K–metabisulfita ili sa 100 – 150 ml 5 % otopine SO₂ u vodi (Zoričić, 1996.).

Količina i trenutak sumporenja ovisi o :

- Zdravstvenom stanju grožđa (trulo grožđe se sumpori više),
- Zrelost grožđa (manje kiseline-više sumporenja),
- Vremenu u trenutku berbe (više se sumpori po toplom vremenu),
- Otečenosti grožđa u razdoblju od berbe do prerade,
- Trajanju i načinu stiskanja,

- Temperaturi mošta.

Uloga sumpora je spriječiti djelovanje oksidacijskih enzima (oksidacija nekih spojeva koji boje mošt u tamnu boju, a kasnije i vino), te spriječiti djelovanje štetnih mikroorganizama (divlji kvasci i bakterije) dok ne počne fermentacija sa poželjnim (plemenitim) kvascima. Sumporenjem se odstrani sva štetna mikroflora i uspore oksidativni procesi u moštu i masulju, te se ubrza taloženje mošta, odnosno, sve nečistoće iz mošta istalože se na dno kace (zemlja, ostaci od zaštitnih sredstava, kao što je bakar, sumpor itd), kako bi u bačvu ušao čisti mošt, sa što manje štetnih sastojaka. Djelovanje sumpornog dioksida je višestruko. Uglavnom djeluje kao antiseptik (utječe na rad cjelokupne mikroflore mošta i vina) i antioksidans (veže se za fenolne tvari i sprječava njihove oksidacije). Sumporenjem se postiže i selekcija kvasaca, ostaju otporniji i bolji, pa oni obave vrenje do kraja. Vezivanje sumpornog dioksida različito je i s obzirom na temperaturu mošta odnosno vina, a ovisi i o količini ukupnih kiselina, pH i stupnju oksidacije (Jakobi, 2015.).

Alkoholna fermentacija

Vrenje mošta, tj. alkoholna fermentacija predstavlja jednu od osnovnih faza u procesu proizvodnje vina. Vrenjem mošta, počinje stvaranje vina. To je faza koja nastupa nakon muljanja grožđa odnosno cijedenja mošta. Hladnije godine ili hladnije regije odlikuju se zakašnjelim, najčešće nedovoljno dozrelim grožđem. Ukupna kiselost je povišena što je s jedne strane dobro jer štiti mošt od kvarenja. Relativno niska temperatura grožđa (naročito u slučaju kada je grožđe isprano kišom) može otežati sam početak fermentacije. Fermentacija pri temperaturi od 25°C započinje nakon 12 sati, kod 17-18°C nakon 24 sata, a kod 15°C fermentacija započinje tek nakon 5-6 dana, dok kod 10°C gotovo da i ne kreće. Suprotno, u toplijim godinama berbe su ranije, grožđe ima višu temperaturu, moštovi su bogatiji šećerima što sve olakšava i ubrzava samu fermentaciju (izuzetno zbog prevelike koncentracije šećera fermentacija može biti također otežana). Pored toga, niska ukupna kiselost povećava opasnost od kontaminacije bakterijama i zahtijeva bolju pažnju i veću zaštitu masulja. Prema tome, temperatura (kontrola) je od temeljne važnosti, kako za normalan tijek alkoholne fermentacije tako i za intenzitet ekstrakcije pojedinih tvari tijekom maceracije, odnosno za ukupnu kvalitetu vina. Zato se i vinifikacija mladih, voćnih vina, namijenjenih brzom potrošnji, odvija na nešto nižim temperaturama (do 25°C). Suprotno kod vina namijenjenih dužem čuvanju i odležavanju, maceracijom se nastoji provesti što bolja

ekstrakcija svih fenolnih komponenti, pa se preporuča viša temperatura između 25-28°C pa čak i iznad 30°C. Tako visoke temperature (iznad 30°C) preporučuju se radi bolje ekstrakcije, ali samo u post-fermentativnoj fazi (kako se ne bi remetila fermentacija i degradirale fermentacijske arome vina) (Kontrec, 2017.).

Drvene bačve

Izrađene su najčešće od hrastova drveta. Podrijetlo drveta, nadmorska visina, način izrade, debljina dužice i niz drugih čimbenika utječu na kakvoću bačve. Utjecaj drvene hrastove bačve na vino toliki je da često s pravom kažemo: „koliko je bačvi u podrumu, toliko imamo vrsta vina.“ Sve bačve u nekom podrumu nisu od istog drveta, nisu iste debljine dužice, nisu istog oblika, tvrdoće i poroznosti drva, na različit su način održavane, pa sve to utječe na kakvoću vina, osobito tijekom dozrijevanja – starenja i oblikovanja bukea. Prema tome, bačva znatno utječe na kakvoću vina, zato mora biti uvijek pravilno održavana, jer to je osnova zdravog i kvalitetnog vina. Kakvoća bačve ovisi o vrsti hrastovog drva, a vrsta hrastovog drva ovisi o tome gdje je hrast rastao s obzirom na nadmorsku visinu i geografsku širinu. Danas se u mnoge podruma za čuvanje vina uvode cisterne od nehrđajućeg čelika i plastične posude, ali drvena bačva ostat će nezamjenjiva posuda s obzirom na poroznost duga, preko kojih vino postupno, blago oksidira, što omogućava procese dozrijevanja kvalitetnih bijelih vina, a posebno je to važno za crna vina, ali samo u ograničeno vrijeme. Drvena posuda izrađuje se u različitim veličinama, može se prenositi u podrum, veća se može rastaviti i ponovno sastaviti opet na drugom mjestu istog podruma, a dotrajala duga, može se zamijeniti. Sve su to prednosti drvenih bačvi, ali ima i manjkavosti, koje se očituju u slabom iskorištenju podrumskog prostora, zatim u potrebi neprekidne njege, osobito prazne bačve (Kontrec, 2017.; Zoričić, 1996.).

Inoks posude – bačve

Izrađuju se od plemenitog čelika. Trajnost, održavanje, manipulacija i napokon njihova cijena daju prednost ovom vinskom posuđu u odnosu na drveno. Ipak, ne treba nikad zanemariti onu kakvoću koju vino može dobiti ako se drži u zdravoj drvenoj bačvi. Budući da se dobra kakvoća vina postiže i držanjem vina u inoks posudama, a održavanje je daleko jednostavnije, to ih sve više imamo u obiteljskim podrumima. Izgradnjom novih podruma, kovinske cisterne zbog svoje ekonomičnosti, iskorištenja prostora u podrumu te otpornosti na kiseline vina i uopćena koroziju, osiguravaju kvalitetni smještaj vina. Nije im potrebna

unutrašnja izolacija i vanjski premaz, pa je zato njihovo održavanje jednostavno, a trajnost neograničena. Prednost ovih cisterni očituje se u boljem iskorištenju prostora u podrumu, to znači da cisterna može biti u obliku valjka, četvrtasta, jer se ti čelici lako oblikuju (Kontrec, 2017.; Zoričić, 1996.).

Maceracija masulja

Crna vina dobivena maceracijom odlikuju se specifičnim karakteristikama, (vizualnim, mirisnim i okusnim) koje ih razlikuju od bijelih vina. Uz aromatske, dušične i mineralne tvari, polisaharide (naročito pektine), maceracija je zaslužna za nakupljanje fenolnih tvari (antocijani i tanini) koji generalno čine boju i strukturu vina. Ekstrakcija pojedinih tvari masulja, tijekom maceracije, mora biti u funkciji karakteristika i kvalitete grožđa, te tipa vina koje želimo proizvesti.

Postoji nekoliko načina maceriranja:

- klasična maceracija,
- maceracija zagrijavanjem,
- karbonska maceracija,
- flash ekspanzija,
- delestage (oksidacijom).

Klasična maceracija izvodi se na temperaturi između 20 i 25°C. Vrenje tada teče tiho, a vina tako dobivena harmonična su s okusom i mirisom svojstvenim sorti. Temperatura viša od 25°C se ne preporučuje, jer tada dolazi do znatnijeg pogoršanja kakvoće vina. Postoje različiti tipovi posuda za fermentaciju crnog grožđa. Dije se na otvorene i zatvorene, te na one sa uzdignutim i one sa potopljenim dropom. Otvoreni tip posude, sa dropom na površini ranije se puno više koristio, a kod manjih proizvođača bio je gotovo jedini način maceriranja masulja. Taj način maceriranja ima određenih prednosti jer je kontakt mošta sa zrakom velik, pa su time i fermentacija i maceracija bolje. Naravno, učinak ovisi o učestalosti potapanja klobuka (potapanje klobuka omogućava ekstrakciju svih sastojaka), a uobičajeno je klobuk potapati 2-3 puta dnevno. Međutim, s druge strane, sama površina dropa nije zaštićena pa lako dolazi do većeg gubitka alkohola (i do 0,5 vol. %), a ono što je još gore do lakše kontaminacije štetnim mikroorganizmima (naročito loših godina kad je grožđe bolesno i zaraženo). Stoga je potrebno, čim dođe do tihog vrenja, otočiti mošt. Potapanje klobuka moguće je obaviti ručno ili pomoću pumpe (polijevanje). Umjesto

potapanja klobuka moguća je varijanta „potopljeni klobuk“. Kod ove varijante drop je cijelo vrijeme u kontaktu s moštom. Međutim, određeni nedostatak predstavlja zbijenost klobuka (uslijed dizanja CO₂), tako da je ispiranje iz unutrašnjosti dropa otežano. Preporuča se stoga i u ovoj varijanti bar jedanput dnevno, ručno ili prepumpavanjem promiješati klobuk. U današnje se vrijeme maceracija većinom provodi u zatvorenim posudama. Posude sa hermetičkim zatvaranjem sprječavaju gubitak alkohola evaporacijom, manja je aeracija pa ne postoji opasnost (ili je vrlo mala) od zaraze mikroorganizmima budući da se masulj nalazi u kontroliranim uvjetima (zaštićen s CO₂) (Kontrec, 2017.).

Antocijani

Antocijani predstavljaju najznačajniju i najrašireniju grupu prirodnih biljnih pigmenata, koji daju boju crnim sortama grožđa i crnom vinu. To su flavonoidni polifenoli koji u prirodi dolaze u obliku antocijanina, tj. glikozida pojedinih antocijanidina. U grožđu se najviše nalaze monoglikozidi. Glavni dio antocijanina su antocijanidini čiji konjugirani dvostruki vezovi su odgovorni za apsorpciju svjetla kod oko 500 nm zbog čega su odgovorni za širok spektar boja u biljkama i biljnim proizvodima, uključujući narančastu, crvenu, ljubičastu i plavu. Najznačajniji antocijanidini su: malvidin, delfinidin, pentunidin, peonidin i cijanidin. Šećeri koji su vezani na antocijanidine, pri čemu čine glikozide, su: monosaharidi (glukoza, ramanoza, galaktoza) te disaharidi i trisaharidi (rutinoza, soforoza, glukorutinoza). Na antocijanin glikozil jedinicu esterski mogu biti vezane alifatske organske kiseline i aromatske fenolne kiseline. Najčešće alifatske kiseline su malonska, octena, maslačna, oksalna i sukcininska, dok najčešće fenolne kiseline, tj. njihovi derivati su hidroksicinaminska, ferulinska, kafeinska, sinapikinska i hidrobenzojeva (Pozderović, 2013.). Osim o sorti, sastav i intenzitet boje grožđa ovisi i o vanjskim faktorima: klima, položaj i tlo. Antocijani su vrlo nestabilne molekule, na čiju stabilnost utječu različiti faktori: temperatura, pH, svjetlost, kisik, prisutnost enzima te struktura i koncentracija antocijana. Koncentracija antocijana u vinu određena je sadržajem antocijana u grožđu i tehnološkim postupkom proizvodnje vina (Morenoi Peinado, 2012.).

Tanini

Tanini su polifenolni spojevi složene strukture, u grožđu se nalaze kondenzirani tanini kao polimeri flavonoidnih i neflavonoidnih fenola, odnosno proantocijanidini. Uglavnom se

nalaze u kožici, peteljci i sjemenkama te značajno utječu na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva vina, odnosno vinu daju gorčinu i trpkost. Osim što utječu na navedena svojstva, sudjeluju u reakcijama enzimskog i neenzimskog posmeđivanja u vinu. Podložni su oksidaciji s kisikom iz zraka pri čemu prelaze u visokomolekularne kondenzirane spojeve tamno crvene boje. Kondenzirani tanini, odnosno proantocijanidini se sastoje od flavan-3-olskih jedinica: katehina i epikatehina. Imaju afinitet za proteine (afinitet se povećava povećanjem molekule polimera) i antioksidacijski učinak (Pozderović, 2013.). Tanini su polifenolni spojevi složene strukture i važan su sastojak vina za vrijeme vinifikacije i odležavanja vina. U grožđu se nalaze kondenzirani tanini kao polimeri flavonoidnih fenola, odnosno proantocijanidini. Osim toga, sadržaj fenola koji daju trpkost namirnici ili proizvodu može imati i utjecaj na prihvaćanje ili neprihvatanje istog. Uz to, značajno utječu na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva vina. Ovi se spojevi uglavnom nalaze u kožici, peteljci i sjemenkama. Tanini imaju afinitet za proteine te uzrokuju njihovo zgrušavanje, a time i ubrzavaju bistrenje i taloženje mošta i vina. Što je veća molekula polimera to je veći i afinitet za proteine. Taninske tvari mogu reagirati sa kisikom iz zraka, čime započinje proces oksidacije i nastajanje tamno obojenih tvari. Crna vina sadrže više tanina od bijelih. U većim količinama tanini daju opor okus vinu (Mihovilović, 2016.).

Otakanje mošta i prešanje masulja

Otakanje se sastoji od odvajanja vina od dropa u posudu gdje će se dovršiti alkoholna i eventualno kasnije malolaktična fermentacija. Svakako posude moraju biti sasvim pune i zatvorene. Nakon odvajanja vina iz posude, slijedi faza vađenja ocijeđenog masulja i prešanja da se izdvoji preostalo vino. Pomoću crpke masulj se prepumpava u prešu. Osnovno pravilo prešanja je da se uz postupno otjecanje mošta mora osigurati paralelno povećanje i održavanje pritiska. To je potrebno kako bi se spriječilo naglo smanjenje volumena kanala za istjecanje mošta između krutih čestica masulja. Postupku prešanja treba pristupiti vremenski što prije, a trajanje ciklusa prešanja mora biti što kraće. Na taj se način izbjegava nepoželjna oksidacija masulja i mošta sa svim njezinim posljedicama. Prešanje s povećanim pritiskom u cilju povećanja randmana nije poželjno jer ide na štetu kakvoće mošta i vina (Zoričić, 1996.).

Način postizanja pritiska ovisi o konstrukciji preše. Postoje nekoliko tipova preša, a dijelimo ih na:

- Mehaničke,
- Hidraulične,
- Pneumatske,
- kontinuirane.

Masulj u preši koji istječe gravitacijskim tokom daje sok koji se naziva samotok, a sok koji istječe pod pritiskom naziva se prešavina. Samotok daje vino znatno bolje kvalitete od vina dobijenog prešanjem. U početku prešanja obično se ide sa nižim tlakovima koji iznose oko 0,7 do 1 bar. Tada se dobije prešavina prvih frakcija, koja se lako izdvaja i gotovo je jednaka samotočnoj frakciji. Povećanjem tlaka izdvaja se prešavina druge frakcije koja je vrlo različita od samotočne frakcije. Bitna stvar prilikom prešanja je da se masulj između faza nekoliko puta protrese (prorahli) u preši. Vinima namijenjenim brzom potrošnji nije preporučeno dodavanje prešavine, bez obzira što je samotok dosta lagane strukture. Dodavanje treba izbjeći i kvalitetnim vinima dobivenim od jako zrelog grožđa, jer se dobiju jako tanična vina. Suprotno tome dodavanje prešavine je često potrebno vinima za starenje. Dodani mali postotak prešavine čini ih kompletnijima i na okus homogenijima. Svojevrсна tanična agresivnost poželjna je vinima namijenjenim odležavanju u drvu ili barrique, a kasnije u boci. U praksi se uglavnom samotok i prešavina ne odvajaju. Na kvalitetu prešavine utječe više čimbenika kao kvaliteta same sirovine, uvjeti punjenja preše i tijek prešanja, pritisak i broj ciklusa prešanja. Može se reći da vina prešavina imaju veću koncentraciju svih sastojaka osim alkohola (Kontrec, 2017.).

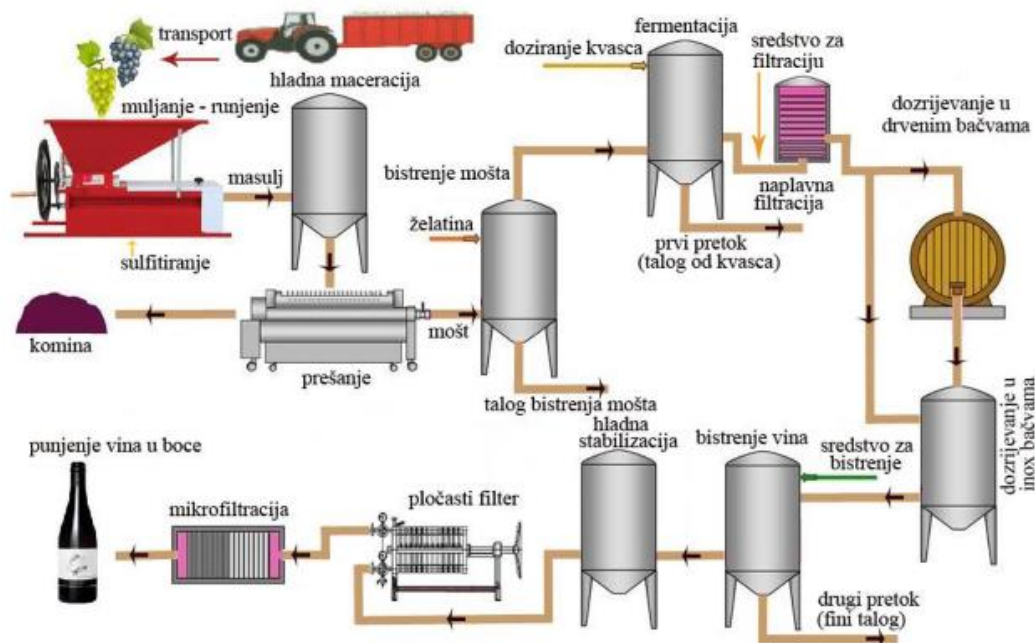
Tiho vrenje mošta

Tiho vrenje je od velikog značaja za vino. U ovom periodu se, pored privođenja fermentacije kraju, odigravaju i drugi procesi veoma značajni za buduća svojstva vina. Smanjena aktivnost kvašćevih stanica je prije svega rezultat povećanog sadržaja alkohola, a osim toga i smanjenog sadržaja šećera. Pored smanjene aktivnosti i znatan broj kvašćevih stanica izumire, oko 20 – 30 % , što također ima za posljedicu opadanje inteziteta fermentacije. Poslije izumiranja uslijed autolize, iz kvašćevih stanica u vino prelaze dušični spojevi, među kojima su od naročitog značaja aminokiseline. Istovremeno, uslijed pada temperature i oslobađanja ugljikovog dioksida smanjuje se i volumen tekućine a samim tim se povećava otpražnjeni prostor iznad površine vina, što omogućava jače prodiranje zraka u otpražnjeni prostor iznad vina čime se stvaraju uvjeti za njegovu aeraciju. Da bismo proces tihog vrenja

priveli kraju bez štetnih posljedica po vino, otpražnjeni prostor u sudovima treba svesti na što manju mjeru, što se može učiniti nadopunjavanjem posuda sa vinom iste kategorije i kakvoće ili pak kupažiranjem vina različite kakvoće u cilju stvaranja određenih tipova vina. U ovome periodu se odigrava, a velikim dijelom i završava i proces mliječne fermentacije jabučne kiseline u vinu. Kod moštova bogatijih u sadržaju šećera (kada grožđe pređe u suharač – prezrelo grožđe sa smežuranim, prezrelim bobicama), tiho vrenje može trajati i više mjeseci. Međutim kod većine moštova sa uobičajenim sadržajem šećera (oko 20 %) ovaj proces ne traje dugo i obično završava 10 – 30 dana nakon burne fermentacije (Jakobi, 2015.).

Malolaktična fermentacija

Malolaktična fermentacija biološki je proces pretvorbe jabučne kiseline u mliječnu. Slično kao i kod alkoholne fermentacije, izuzetno je važno da selekcionirane malolaktične bakterije momentalno prevladaju divlje indogene mikroorganizme. Glavni zadatak ove reaktivacije je zaštititi bakterije od simultanih nepovoljnih uvjeta stvorenih nepovoljnim pH, sumpornim dioksidom, alkoholom, temperaturom i manjkom hranjiva. Idealan pH i temperatura osiguravaju selekcioniranim malolaktičnim bakterijama da se razmnože. Razgradnju jabučne kiseline provode mliječne bakterije, pri čemu uz mliječnu kiselinu sintetiziraju brojne hlapive spojeve od kojih su neki pozitivnog, a pojedini i negativnog utjecaja na kakvoću vina. Tijek ovog procesa mora biti kontroliran i usmjeravan kao i alkoholna fermentacija. Vina u kojima je završila malolaktična fermentacija više ne sadrže jabučnu nego mliječnu kiselinu, okus im je mekši, blaži i zaobljeniji, a aroma znatno kompleksnija nego kod vina u kojima nije nastupila malolaktična fermentacija. Međutim, u gotovo svim hrvatskim vinarijama malolaktičnoj fermentaciji ne pridaje se posebno značenje, te ona često u vinima protječe spontano i nekontrolirano ili se sprječava jakim sumporenjem. Malolaktična fermentacija oduvijek je bila prihvaćena kao dio tehnologije crnih vina, dok kod tehnologije bijelih vina i danas postoji dvojba o provedbi malolaktične fermentacije. Oduvijek su se bijela vina iz hladnijih klimatskih zona razlikovala od onih iz toplijih krajeva, jer sadržavaju veću količinu kiselina. Stoga je reduciranje ukupne kiselosti vina postalo jedan vrlo važan dio tehnologije i u proizvodnji bijelih vina hladnijih vinogradarskih zona (Zoričić, 1996.).



Slika 1 Vinifikacija crnih vina

2.5. ODREĐIVANJE SASTOJAKA AROME PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

Plinska kromatografija

Plinska kromatografija (engl. gas chromatography, GC) je separacijska tehnika u kojoj se hlapljive sastavnice uzorka raspodjeljuju između mobilne plinovite faze te tekuće ili čvrste stacionarne faze u koloni. Eluciju sastavnica omogućava tok inertne plinovite mobilne faze. Za razliku od ostalih kromatografskih tehnika, ovdje mobilna faza ne ulazi u interakciju s molekulama analita (Skoog i sur., 2014). Uzorak je otopljen u pokretnoj fazi, koja može biti tekućina, plin, fluid u superkritičnim uvjetima, i kreće se uzduž nepokretne faze, koja može biti u koloni ili na ravnoj plohi (Primorac, 2007.). Uzorak se injektira na početak kromatografske kolone gdje isparava. Mobilna faza je inertni plin pomoću kojeg se provodi eluiranje. Odvajanje sastojaka na GC koloni uvjetovano je razlikom u njihovoj hlapivosti. Razdvajanje smjese hlapivih sastojaka odvija se naizmjenično adsorpcijom i desorpcijom lakše hlapivih sastojaka, djelovanjem plina nositelja (Vrdoljak, 2009.). Plin nosioc nema interakcija s analiziranim komponentama već služi isključivo kao transportno sredstvo (Primorac, 2007.).

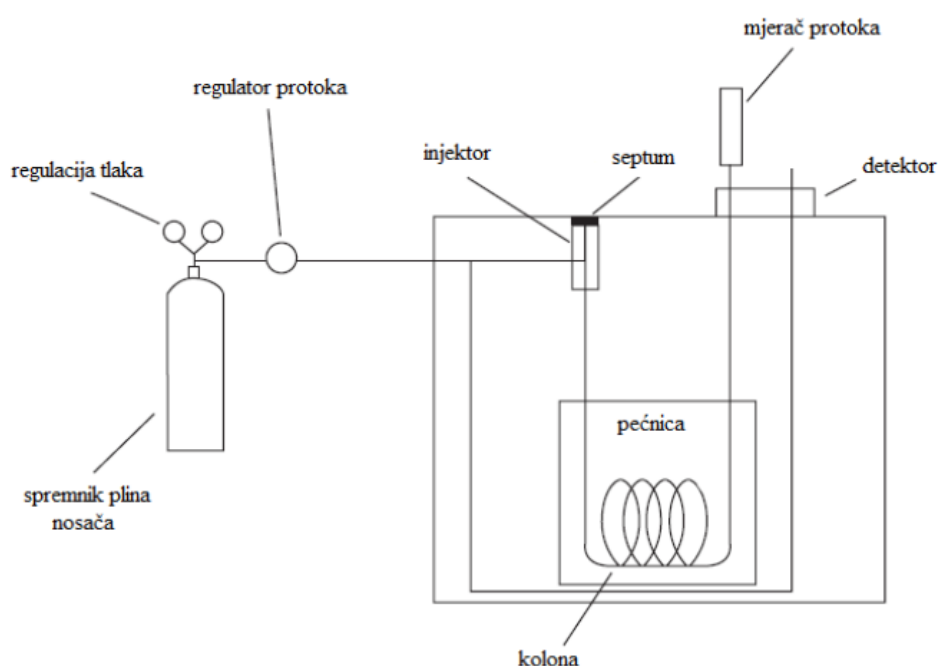
Ova kromatografska tehnika, s obzirom na stacionarnu fazu, može se podijeliti na dva osnovna tipa:

Plinsko-tekućinska kromatografija (GLC)

Stacionarna faza je tekućina imobilizirana, adsorpcijom ili kemijskim vezama, na površini inertne čvrste faze ili na stijenkama kapilarne kolone.

Plinsko-čvrsta kromatografija (GSC)

Stacionarna faza je u čvrstom stanju te se zadržavanje analita događa isključivo zbog fizičke adsorpcije analita na čvrstu fazu.



Slika 2 Shematski prikaz plinskog kromatografa

Plin nositelj

Prethodno opisana kromatografska tehnika provodi se na uređaju koji se zove plinski kromatograf. On se sastoji od sustava za dovod plina nositelja, sustava za injektiranje uzorka, kolone i termostatisane pećnice te detektora. Sustav za dovod plina nositelja. Plin nositelj predstavlja mobilnu fazu te je potrebno da bude kemijski inertan. Kao plin nositelj najčešće se koristi helij te, u manjoj mjeri, argon, dušik ili vodik.

Sustav za nanošenje uzorka

Kako bi se postigla visoka učinkovitost razdvajanja, nužna je prikladna količina uzorka. Prevelika količina uzorka te njegovo sporo nanošenje uzrokuju širenje pikova te loše

razlučivanje. Kako bi se to izbjeglo razvijeni su razdjelnici (engl. splitter) koji omogućuju da se na kolonu nanese samo manji dio uzorka dok se ostatak otpuše (Skoog i sur., 2014).

Uređaj za unošenje uzoraka (injektor)

Da bi se u konačnici dobio dobar rezultat analize, uzorak se u sustav za analizu unosi brzo, u maloj količini, pomoću mikrolitarske štrcaljke, kroz gumenu ili silikonsku membranu u zagrijani dio uređaja koji je smješten na vrhu kolone. Kako bi isparavanje uzorka bilo potpuno, temperatura prostora gdje dolazi do rasprskavanja i isparavanja uzorka mora biti za 50 °C viša od temperature.

Kolone

Kromatografske kolone mogu biti izrađene od nehrđajućeg čelika, stakla, silikagela ili Teflona te duge manje od 2 metra do 60 metara ili više. Postoje dvije vrste kolona, punjene i kapilarne kolone (Skoog i sur., 2014). Punjene kolone su gusto i jednolično punjen finim materijalom za punjenje koji je prevučen tankim slojem (0,05 do 1 µm) tekuće stacionarne faze. Kapilarne kolone imaju dvije inačice. Prvi tip čini kapilara čija je unutrašnja stjenka obložena tankim slojem tekuće stacionarne faze. Drugi tip se od prvog razlikuje po tome što je kapilara obložena tankim slojem čvrstog materijala na koji je potom adsorbirana tekuća stacionarna faza. Jako bitan faktor za uspješnu analizu je temperatura kolone. Iz tog razloga, kolone su smještene unutar termostatisirane pećnice. Temperatura kolone može biti konstantna tokom cijele analize ili se može mijenjati, stupnjevito ili konstantno. Za analizu spojeva širokog raspona vrelišta primjenjuju se temperaturni programi u kojima se temperatura kolone postepeno povisuje (Skoog i sur., 2014).

Detektori

U literaturi je opisana je primjena desetak različitih detektoru plinskoj kromatografiji. Izbor detektora ponajviše ovisi o vrsti analita koji se analizira. Najčešće se koriste:

- **Plameno ionizacijski detektor** (engl. flame ionisation detector, FID)

Većina organskih molekula proizvodi ione i elektrone kada su polarizirane na temperaturi plamena. Spojevi se, nakon razdvajanja na koloni, detektiraju mjerenjem struje proizvedene skupljanjem iona i elektrona.

- **Detektor toplinske vodljivosti** (engl. thermal conductivity detector, TCD)

Toplinska vodljivost plina nositelja je 6-10 puta veća od toplinske vodljivosti

organskih molekula. Stoga prisutnost organskih molekula dovodi do velikog pada u toplinskoj vodljivosti.

- **Maseno-spektroskopski detektor** (engl. mass spectrometer, MS)

Ovaj detektor predstavlja jedan od najmoćnijih detektora za plinsku kromatografiju.

On mjeri omjer mase i naboja iona (Skoog i sur., 2014).

Spektrofotometrija masa

Spektrometri su instrumenti koji daju podatke o molekularnoj strukturi. Razlikuju se:

- infracrveni spektar (IC),
- spektar nuklearno – magnetske rezonancije (NMR),
- ultraljubičasti spektar (UV),
- spektar elektron – spinske rezonancije (ESR)
- spektar masa.

Spektrometar masa je uređaj u kojem se molekule bombardiraju snopom elektrona bogatih energijom. Dolazi do ionizacije i cijepanja molekula u mnogo fragmenata, od kojih su neki pozitivno nabijeni ioni. Svaka vrsta iona ima određenu masu i naboj, odnosno određeni odnos m/e što je karakteristična veličina za tu vrstu iona. Niz iona se analizira na način da se dobije signal za svaku vrijednost m/e koja je prisutna. Intenzitet svakog signala prikazuje relativnu količinu iona koja daje taj signal. Osnovni signal je najviši signal ili maksimum (engl. peak). Intenzitet osnovnog signala označava se sa 100, te se obzirom na njegov intenzitet izražava intenzitet ostalih signala. Spektar masa je dijagram koji pokazuje relativne intenzitete signala za različite vrijednosti m/e . Za dokazivanje identičnosti dvaju spojeva i kao pomoć pri određivanju strukture novog spoja može poslužiti spektar masa. Dva spoja su identična ako su im jednake fizikalne konstante (talište, vrelište, gustoća). U kombinaciji plinskog kromatografa i masenog spektrometra, plinskom kromatografijom se razdvajaju sastojci, a maseni spektrometar služi kao detektor (Vrdoljak, 2009.).

SPME analiza

Dugotrajna priprema uzoraka i upotreba organskih otapala, analitičke tehnike poput ekstrakcije tekuće - tekuće ili ekstrakcije na čvrstoj fazi nisu bile zadovoljavajuće učinkovite, te su Zhang i Pawliszyn 1993. godine razvili novu tehniku pripreme uzoraka poznatu kao

mikroekstrakcija na čvrstoj fazi ili tzv. SPME (engl. solid phase microextraction) tehnika. Ova tehnika se sve više primjenjuje za pripremu čvrstih i tekućih uzoraka poput vina, piva, voća, ulja i meda. SPME se sastoji od dvije odvojene faze, apsorpcije, prilikom koje dolazi do zaostajanja analita na stacionarnoj fazi i desorpcije. Za uspješan postupak obje faze moraju biti optimizirane. Na desorpciju utječu temperatura i vrijeme desorpcije, dok na ekstrakciju utječe tip uzorka, vrijeme ekstrakcije, ionska jakost, pH uzorka, temperatura ekstrakcije i mućkanje uzorka. SPME analiza je tehnika koja se koristi za analizu širokog spektra hrane, prvenstveno iz razloga što zahtijeva manju manipulaciju ali i zato što je ekonomski prihvatljiva.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je ispitati je li alkoholna fermentacija, provedena u drvenoj bačvi i inoks posudi, utječe na zadržavanje tvari arome i boje u vinu Plavac mali. U tu svrhu se u navedenom vinu, fermentiranom u posudama proizvedenim od dva različita materijala, odredio sadržaj tvari boje i arome te su se isti međusobno usporedili. Tvari boje, polifenoli, flavonoidi, antocijani, degradacija antocijana i antioksidacijska aktivnost odredili su se spektrofotometrijski. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka provodilo se primjenom instrumentalne plinske kromatografije i mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME). U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 5890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5971A.

3.2. MATERIJAL I METODE

Vino sorte Plavac mali

Plavac mali je naša autohtona sorta crnog grožđa.

Sinonimi: plavina mala, plavac srednji, viška, crljenak, kaštelanac, zelenac, krapak. Rasprostranjen je u podregiji srednja i južna Dalmacija, na obalnom i otočnom dijelu. Plavac mali je smjesa nekoliko tipova plavca: plavac mali rodni, plavac mali veliki i plavac mali sitni. Od ove sorte grožđa proizvode se vrhunska i kvalitetna vina: postup, dingač, faros, ivandolac, bolški plavac, plavac Ston... Raširen je najviše u srednjoj i južnoj Dalmaciji. Čokot je srednje jak, vegetacija srednje bujnosti, rozgva smeđecrvene boje. List je srednje veličine, debeo, kožast, peterodijelan ili sedmerodijelan. Zupci su veliki i široki. Cvijet je hermafroditan. Grozd je srednje veličine i mali, jednostavan, piramidalan, zbijen, kratke peteljke. Bobice su srednje velike, okrugle. Kožica je debela i čvrsta, tamnomodre boje. Dozrijeva u IV epohi. Kvaliteta je vrlo visoka, mošt sadrži 18 – 24 % šećera. Otporan je na sušu. U sastav ovog vina ulazi i manji dio nekih crnih sorata grožđa: plavina, babiće, okatac. To su puna, jaka, ekstraktna, lagano trpkasta vina, tamnogradocrvene boje, specifične arome i bukea (Zoričić, 1996; Licul i Premužić, 1997.).

Osnovni sastojci vina kreću se:

Alkohol	12,3 – 14,7 vol.
Ukupni ekstrakt	28 – 43 g/l
Šećeri	2 – 10 g/l

Ekstrakt bez šećera	25 – 32 g/l
Ukupna kiselina	5 – 6 g/l
Glicerol	8 – 14 g/l
Pepeo	1,7 – 3 g/l



Slika 3 Vino sorte Plavac mali

Kemijska analiza vina

Određivanje ukupnih polifenola

Koncentracija ukupnih fenola određena je Folin-Ciocalteu metodom, mjerenjem absorbance pri valnoj duljini od 765 nm (Ough i Amerine, 1988.) Sadržaj polifenolnih spojeva je interpoliran pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline te je izražen u mg galne kiseline/l uzorka.

Određivanje antocijana

Za određivanje antocijana primijenjena je pH-diferencijalna metoda. pH-diferencijalna metoda se zasniva na strukturnoj transformaciji kromofora antocijana u ovisnosti o promjeni pH. Antocijani podliježu reverzibilnoj strukturnoj transformaciji s promjenom pH koja se manifestira promjenom spektra absorbancije. pH-diferencijalna metoda za određivanje antocijana omogućava brzo i točno mjerenje ukupnih antocijana, bez obzira na prisutnost

polimeriziranih, degradiranih pigmenata i drugih tvari koje bi mogle smetati. Antocijani su određivani metodom prema Giusti i Wrolstadu (2001.) s malom modifikacijom (Giusti i Wrolstad, 2001.). Otpipetirano je 0,2 ml ekstrakta uzorka u dvije kivete, u jednu je dodano 1 ml pufera pH 1, a u drugu 1 ml pufera pH 4,5. Nakon stajanja od 15 min uzorcima je pomoću spektrofotometra mjerena absorbanca pri valnim duljinama od 512 nm i 700 nm. Sadržaj antocijana je izračunat prema slijedećoj formuli:

$$C \text{ (antocijana) (mg/kg)} = (A \times M \times FR \times 1000) / \epsilon \times l$$

gdje je:

A -absorbancija uzorka, a izračunava se prema izrazu:

$$A = (A_{508} - A_{700})_{pH 1} - (A_{508} - A_{700})_{pH 4,5}$$

M -449,2

FR -faktor razrjeđenja

ϵ -molarna absorptivnost; 26 900

l -duljina kivete; 1 cm

(M i ϵ su uzeti za dominantnu vrstu antocijanina odnosno za cijanidin-3-glukozida).

Određivanje degradacije antocijana

Degradacija antocijana odnosno smanjenje intenziteta crvene boje (A_{508}) i povećanje posmeđivanja (A_{420}) se izračunava prema formuli:

Gustoća boje kontrolnog uzorka (tretiranog vodom):

$$\text{Gustoća boje} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{508} - A_{700})] \times FR$$

Boja nastala polimerizacijom (uzorak tretiran bisulfitom):

$$\text{Boja nastala polimerizacijom} = [(A_{420} - A_{700}) + (A_{508} - A_{700})] \times FR$$

FR –faktor razrjeđenja

$$\% \text{ boje nastale polimerizacijom} = \text{boja nastala polimerizacijom} / \text{gustoća boje} \times 100$$

Određivanje antioksidacijske aktivnost

ABTS metoda

U ABTS metodi prati se raspadanje radikala ABTS^{•+} koji nastaje oksidacijom 2, 2'-azinobis (3-etilbenzotiazilin-6-sulfonat) (ABTS) djelovanjem fenolnih tvari. U odsutstvu fenolnih tvari,

ABTS+je relativno stabilan, ali brzo reagira u prisutstvu donora H^+ te prelazi u neobojeni oblik ABTS-a (Arnao i sur., 2001.).

Postupak: odpipetirano je 0,2 ml uzorka te dodano 3,2 ml otopine ABTS, dobro promiješa i smjesa se ostavi reagirati 1 h i 35 min u mraku. Nakon toga mjeri se absorbanca pri 734 nm. Antioksidativna aktivnost izračunata je iz kalibracijske krivulje uz trolox kao standard. Za svaki uzorak provedena su dva mjerenja.

Određivanje ukupnih flavonoida

Za određivanje ukupnih flavonoida primjenjena je metoda prema Kim, Jeong i Lee (2003.) s modifikacijom (Blasa i sur., 2005.). Za kalibraciju su uzete različite koncentracije kvercetina (5-114 $\mu\text{g/ml}$), a linearnost je 0,9953 (R^2). Ukratko, 1 ml otopine vina (1 mg/ml) je pomiješan s 0,3 ml NaNO_2 (5%), a nakon 5 min je dodano 0,3 ml AlCl_3 (10%). Uzorci vina su pomiješani i 6 min kasnije neutralizirani s 2 ml otopine NaOH (1M). Absorbanca je izmjerena za sve uzorke pri 510 nm, a kvantifikacija izvedena koristeći kalibracijsku krivulju. Rezultati su izraženi u mg ekvivalenata kvercetina (QE) / 100 g vina, kao srednja vrijednost triju ponavljanja

Analiza arome vina plinskom kromatografijom primjenom SPME analize

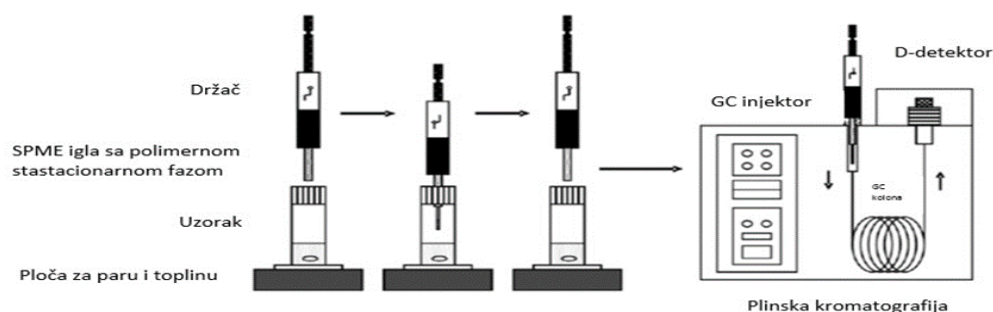
Priprema uzoraka za analizu:

Tehnika korištena prilikom pripreme uzorka je tehnika mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME) za koju je neophodna SPME aparatura. Osnova SPME aparature je igla unutar koje se na polimernu stacionarnu fazu adsorbiraju aromatični sastojci. U radu je za pripremu uzoraka korišteno punilo od polidimetilsiloksana-divinilbenzena (polimerna stacionarna faza) debljine 65 μm .

Postupak pripreme uzorka:

U bočicu od 10 ml odvaže se 5 g uzorka vina. Kako bi adsorpcija aromatičnih sastojaka bila bolja dodaje se 1 g NaCl . U bočicu se ubaci magnet, te se hermetički zatvori teflonskim čepom. Bočica se postavi u vodenu kupelj, te se uz stalno miješanje uzorka magnetskom miješalicom, aromatični sastojci adsorbiraju na polimernu stacionarnu fazu unutar igle. Prije samog ispuštanja igle u nadprostor uzorka, uzorak se 5 minuta miješa na vodenoj kupelji (40 °C) radi zasićenja nadprostora sa svrhom što bolje adsorpcije aromatičnih sastojaka. Adsorpcija se provodi na temperaturi od 40 °C (vodena kupelj) u trajanju od 45 minuta. Po završetku adsorpcije igla s adsorbiranim sastojcima odmah se stavlja u injektor plinskog kromatografa te

slijedi njihova toplinska desorpcija. Određivanje kvantitativnog udjela aromatičnih sastojaka vina od jabuke provedeno je primjenom instrumentalne plinske kromatografije. U radu je korišten plinski kromatograf tvrtke Agilent 7890 B s maseno-selektivnim detektorom Agilent 5977 A.



Slika 4 Korištenje SPME držača za uzorkovanje i analizu

Uvjeti rada plinskog kromatografa:

Parametri ekstrakcije:

- Temperatura ekstrakcije: 40 °C
- Vrijeme ekstrakcije: 45 minuta
- Tip mikroekstrakcijske igle: 65 μ m PDMS/DVB (Supelco).

GC-MS analitički uvjeti:

Kolona: HP5; 60 m x 0,25 mm x 0,25 mm (Agilent)

- Početna temperatura: 40 °C (2 minuta)
- Temperaturni gradijent: 6 °C/min

Plin nosač: helij (čistoće 5,0) s protokom 1 mL/min pri 40 °C

- Konačna temperatura: 230 °C
- Temperatura injektora: 250 °C
- Temperatura detektora: 280 °C
- Desorpcija uzorka u injektor: 7 min

U izradi kromatografske analize korišten je splitless mod

4. REZULTATI

Tablični prikazi rezultata

Tablica 5 Rezultati kemijske analize vina i tvari boje za vino Plavac mali u inoks cisterni

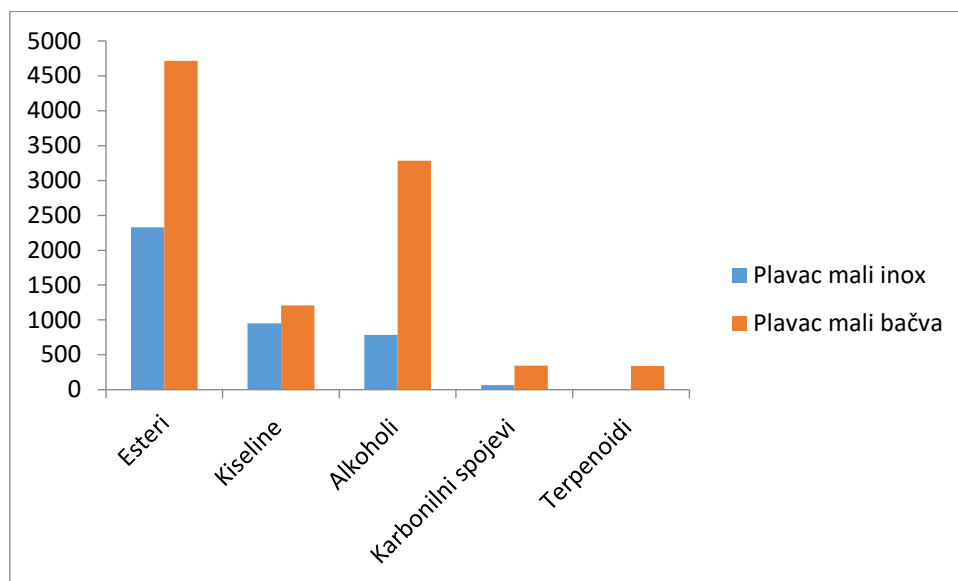
	Plavac mali (inoks)
Udio suhe tvari (%)	8
Ukupne kiseline (g/L)	3,825
Slobodni sumpor (mg/L)	31,36
Ukupni sumpor (mg/L)	36,48
Pepeo (g/L)	4,432
Prirodni šećeri (g/L)	3,80
Alkohol (vol. %)	14,21
Ekstrakt (g/L)	28,8
DPPH (mg/100 g)	55,59
Flavonoidi (mg/L)	1155,02
Polifenoli (mg/L)	2120,41
Antocijani (mg/L)	30,69
Degradacija antocijana (%)	74,12

Tablica 6 Rezultati kemijske analize vina i tvari boje za vino Plavac mali u drvenoj bačvi

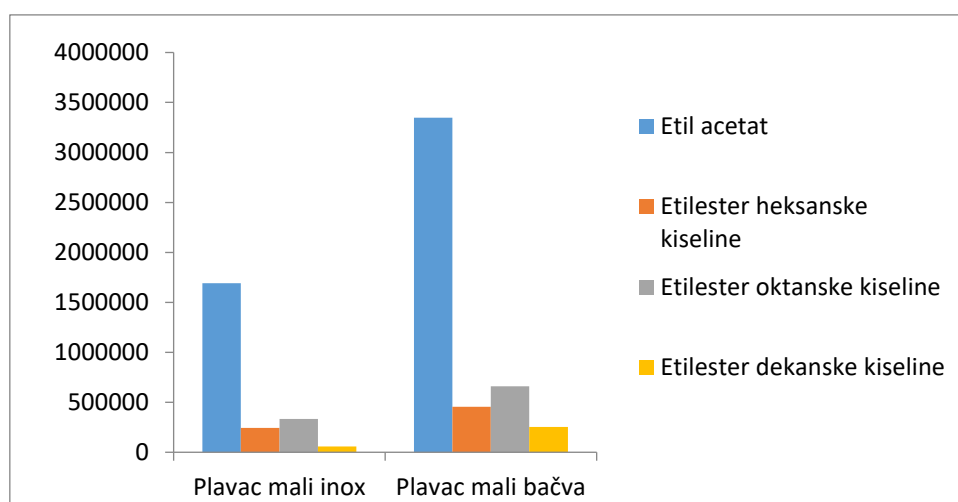
	Plavac mali (bačva)
Udio suhe tvari (%)	8
Ukupne kiseline (g/L)	3,413
Slobodni sumpor (mg/L)	26,88
Ukupni sumpor (mg/L)	29,44
Pepeo (g/L)	4,516
Prirodni šećeri (g/L)	1,40
Alkohol (vol. %)	14,35
Ekstrakt (g/L)	25,8
DPPH (mg/100 g)	90,63
Flavonoidi (mg/L)	1310,51
Polifenoli (mg/L)	2387,40
Antocijani (mg/L)	56,55
Degradacija antocijana (%)	62,45

Tablica 7 Površine pika aromatičnih sastojaka identificiranih u ispitivanom vinu

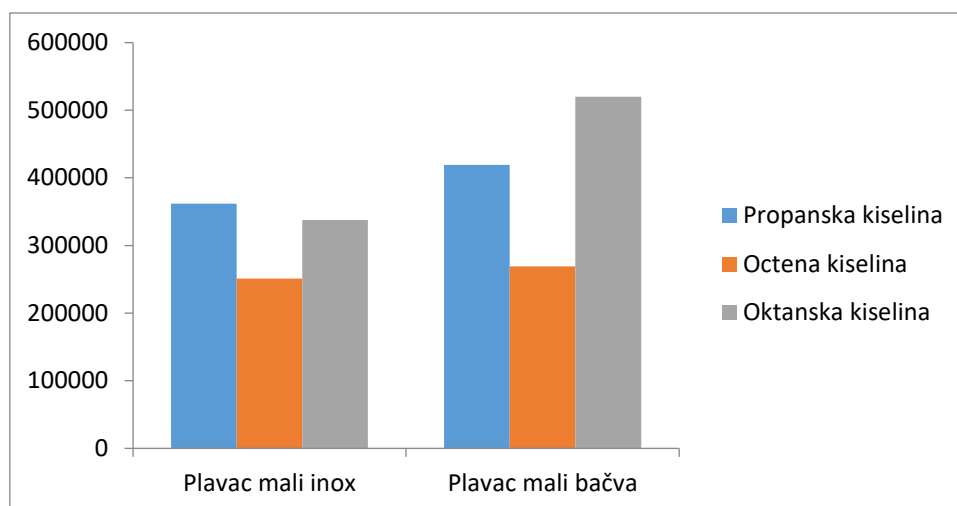
Sastojak	RT (vrijeme pojavnosti pika na kromatogramu)
Esteri	
Etil acetat	3,394
Etilester heksanske kiseline	12,595
Etilester oktanske kiseline	18,122
Etilester dekanske kiseline	21,568
Kiseline	
Propanska kiselina	8,789
Octena kiselina	18,472
Oktanska kiselina	26,531
Alkoholi	
1-pentanol	13,291
3-metil-1-propanol	15,522
2-heptanol	15,634
1-heksanol	16,265
3-oktanol	17,278
1-heptanol	18,581
2-etil-1-heksanol	19,228
2-nonanol	19,739
1-oktanol	20,374
Terpinen-4-ol	21,095
1-dekanol	23,172
Fenetil alkohol	24,996
Karbonilni spojevi	
3-buten-2-on	19,897
Furfural	18,662
Tetradekanal	22,546
Terpenoidi	
Antracen	29,733
Fenantren	29,851



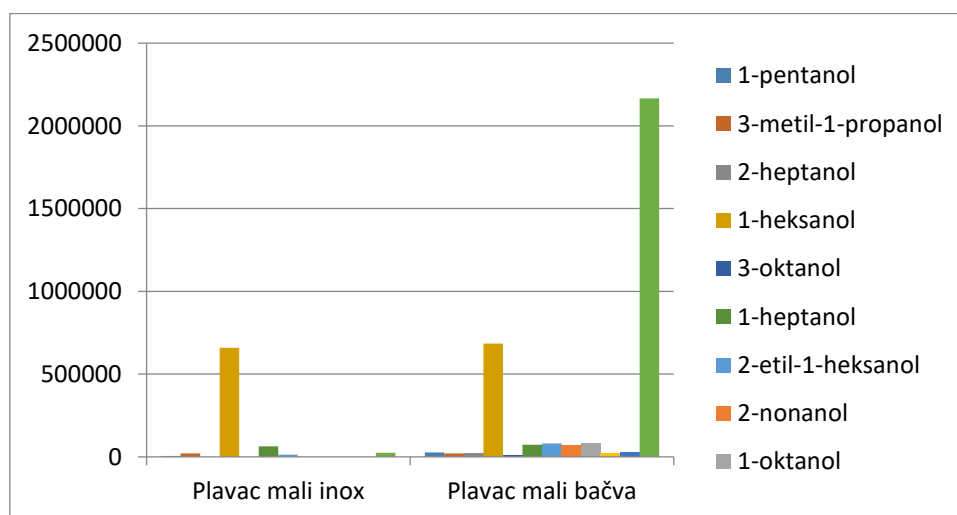
Slika 5 Sadržaj tvari arome u vinu sorte Plavac mali u drvenoj bačvi i inoks cisterni



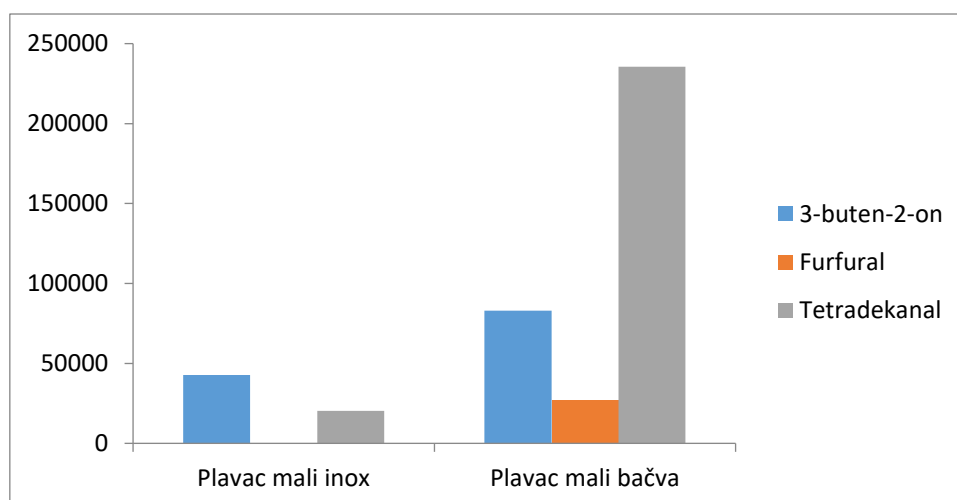
Slika 6 Sadržaj estera u vinu sorte Plavac mali u drvenoj bačvi i inoks cisterni



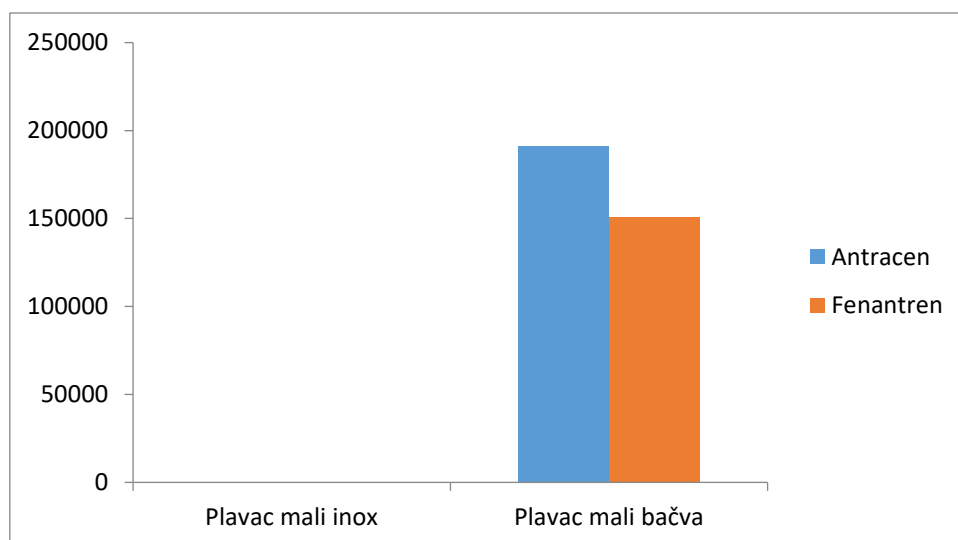
Slika 7 Sadržaj kiselina u vinu Plavac mali u drvenoj bačvi i inoks cisterni



Slika 8 Sadržaj alkohola u vinu Plavac mali u drvenoj bačvi i inoks cisterni



Slika 9 Sadržaj karbonilnih kiselina u vinu Plavac mali u drvenoj bačvi i inoks cisterni



Slika 10 Sadržaj terpenoidnih kiselina u vinu Plavac mali u drvenoj bačvi i inoks cisterni

5.RASPRAVA

Rezultati istraživanja utjecaja vrste fermentacijske posude na aromatski profil i boju vina sorte Plavac mali prikazani su u **Tablicama 5, 6 i 7** te na **Slikama 5, 6, 7, 8, 9 i 10**. Određivanje kemijskog sastava vina (udjela šećera, suhog ekstrakta, kiselina, pepela, alkoholne jakosti) osnova je za njihovo klasificiranje. U **Tablici 7** prikazan je kemijski sastav ispitivanih vina sorte Plavac mali dobivenih fermentacijom i odležavanjem u drvenoj bačvi i inoxu.

Ukupne kiseline u vinu imaju dvostruku ulogu: daju osvježavajući okus vinu i djeluju kao konzervansi. Izražavaju se kao g vinske kiseline/L. Iz **Tablice 5** vidljivo je da razlika u udjelu ukupnih kiselina nije velika, ali u vinu Plavac mali koje je odležavalo u inoxu sadržaj kiselina je nešto veći (3,825 g/L).

Šećeri su, u prvom redu, pokazatelji zrelosti grožđa. Ukoliko se poznaje udio šećera u soku grožđa, u gotovom vinu se može odrediti da li je tijekom proizvodnje vina u sok dodan šećer (patvorenje). S obzirom na sadržaj šećera, vina se dijele na: suha, polusuha, poluslatka i slatka vina. Rezultati analize (**Tablice 5 i 6**) vina Plavac mali dobivenih odležavanjem u drvenoj bačvi i inoxu pokazali su da vino koje je odležavalo u inoxu ima skoro tri puta veći sadržaj šećera (3,80 g/L) od vina koje je odležavalo u drvenoj bačvi (1,40 g/L).

Ukupni suhi ekstrakt u vinu čine sve organske i mineralne tvari koje nisu hlapive pod specifičnim fizikalnim uvjetima, a to su: ugljikohidrati, nehlapive kiseline, tvari boje, viši alkoholi, polifenoli. U **Tablicama 5 i 6** vidljivo je da razlika u ukupnom suhom ekstraktu u oba ispitivana vina nije velika, ali je sadržaj ekstrakta u vinu Plavac mali iz inoxa (28,8 g/L) veći nego u vinu Plavac mali iz drvene bačve (25,8 g/L).

Dopušteni udio alkohola u vinu kreće se od minimalno 8,5 % vol. (stolna vina) do maksimalno 15 % vol. U vinu Plavac mali koje je odležavalo u inoxu udio alkohola iznosi 14,21 % vol., a u onom koje je odležavalo u drvenoj bačvi 14,35 % vol.

Pored suhog ekstrakta i udjela alkohola, udio pepela predstavlja jedan od glavnih parametara za kategorizaciju vina (stolno, kvalitetno i vrhunsko). Pepeo u ispitivanom vinu Plavac mali iz inoxa iznosi 4,432 g/L, a u vinu Plavaca mali iz drvene bačve 4,516 g/L. Sumporenjem vina sprječava se mogućnost oksidacije i kvarenja vina. Udio slobodnog sumpornog dioksida u ispitivanim vinima Plavac mali kreće se oko 30 mg/L, a udio ukupnog SO₂ nije značajno veći, što znači da se samo mali dio sumpornog dioksida vezao za komponente u vinu.

Fenolni spojevi se ekstrahiraju iz čvrstih dijelova grozda (kožice, sjemenke, ali i peteljke) u fazi maceracije kod proizvodnje crnih vina. Osim što vinu daju karakterističnu boju, okus i trpkost, imaju i zaštitnu ulogu jer uklanjaju slobodne radikale koji štetno djeluju na organizam. U **Tablici 6** vidljivo je da vino Plavac mali dobiveno odležavanjem u bačvi ima veći udio polifenola, ali i veći sadržaj flavonoida i antioksidacijsku aktivnost od vina koje je odležavalo u inoxu.

Aroma vina predstavlja kombinaciju primarne, sekundarne i tercijarne arome mošta i vina, koje su prirodno prisutne u grožđu ili nastaju tijekom fermentacije i odležavanja („*bouquet*“). To su različiti hlapivi spojevi: esteri, viši alkoholi, masne kiseline, aldehidi, ketoni, terpeni i drugi spojevi. Kombinacija ovih spojeva različita je kod svakog vina i predstavlja jedan od glavnih parametara po kojem se vina razlikuju i na osnovu kojeg potrošači biraju vino za konzumaciju. U ispitivanim vinima Plavac mali identificirana su 24 različita aromatična spoja (**Tablica 7**). Ti spojevi podijeljeni su u pet skupina: esteri, kiseline, alkoholi, karbonilni spojevi i terpenoidi.

Esteri daju vinu voćnu aromu i miris banane, a nastaju reakcijom acetil-CoA sa višim alkoholima koji nastaju degradacijom aminokiselina ili ugljikohidrata. U ispitivanim vinima identificirani su sljedeći esteri: etil acetat, etilester heksanske kiseline, etilester oktanske kiseline i etilester dekanske kiseline. Na **Sllici 6** vidljivo je da oba vina imaju najveći sadržaj etil acetata, ali ukupni udio estera veći je kod vina Plavac mali iz drvene bačve.

Kiseline potječu iz sirovine, ali dijelom nastaju i alkoholnom fermentacijom. U vinima Plavac mali identificirane su tri kiseline: propanska, octena i oktanska kiselina. Koncentracija octene kiseline u vinu vrlo je mala, jer povećane koncentracije ove kiseline nastaju kao rezultat bakterijskog kvarenja. Vino Plavac mali koje je odležavalo u drvenoj bačvi ima veći ukupni sadržaj kiselina od vina iz inoxa, a najveći udio ima oktanska kiselina (**Slika 7**).

Dio aromatskog profila vina su i alkoholi koji nastaju kao sekundarni produkti metabolizma kvasaca. U ispitivanim uzrocima identificirano je 12 alkohola (1-pentanol, 1-heptanol, 2-heptanol, 3-oktanol, fenetil alkohol i dr.), a prikazani su u **Tablici 7**. Ukupni sadržaj alkohola puno je veći u vinu Plavac mali iz drvene bačve nego u vinu iz inoxa, a najveći udio ima fenetil alkohol (**Slika 8**).

Sadržaj karbonilnih spojeva (3-buten-2-on, furfural i tetradekanal) veći je u vinu Plavac mali koje je odležavalo u drvenoj bačvi, a najveći udio ima tetradekanal (**Slika 9**).

Svaka sorta grožđa ima svoju karakterističnu aromu, a glavna skupina spojeva koji predstavljaju sortnu aromu su terpeni. U grožđu možemo pronaći slobodne terpene (odgovorni su za aromu grožđa i mošta) i vezane terpene (najčešće su vezani za šećere). Vezani terpeni predstavljaju tzv. „skrivenu aromu“, koju je, tijekom procesa proizvodnje vina, potrebno osloboditi. Udio terpena ovisit će o tehnološkim postupcima proizvodnje (maceracija, ekstrakcija, hidroliza, uporaba enzima itd. Na **Slici 10** prikazan je sadržaj terpena u ispitivanim uzorcima i vidljivo je da vino Plavac mali koje je odležavalo u inoxu uopće nema terpenskih spojeva u ukupnoj aromi, dok su u vinu Plavac mali iz drvene bačve identificirani antracen i fenantren.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Kemijski sastav, udio tvari boje i arome vina uvelike ovise o vrsti fermentacijske posude u kojoj se odvijaju faze fermentacije i dozrijevanja vina (u ovom slučaju inox tank i drvena bačva).
- Rezultati istraživanja pokazali su da vino koje odležava u inoxu ima veći udio ukupnih kiselina, šećera i suhog ekstrakta.
- Vrijednosti volumnog udjela alkohola i sadržaja pepela u oba ispitivana vina približno su jednake.
- Vino Plavac mali iz drvene bačve ima veći sadržaj polifenola, flavonoida i antioksidacijsku aktivnost.
- U ispitivanim uzorcima pronađene su značajne količine estera, posebice etil acetata, a njihov sadržaj je veći kod vina Plavac mali koje je odležavalo u drvenoj bačvi.
- Udio alkohola u ukupnoj aromi veći je kod vina iz drvene bačve, sa najvećim udjelom fenetil alkohola i 1-heksanola. Ovaj uzorak ima i veći udio kiselina i karbonilnih spojeva u ukupnoj aromi.
- Vino Plavac mali iz inoxa u aromi ne sadržava terpenoide, dok su u vinu iz bačve identificirani antracen i fenantren.

7. LITERATURA

- Maletić E, Karoglan Kontić J, Pejić I: *Vinova loza*. Zagreb, 2008.
- Horvat B: Od berbe do mladog vina. *Gospodarski list*; prilog prema knjizi Zoričić M: Domaće vino. Novinarsko nakladničko i trgovačko d.d., Zagreb, 15. rujan 2010.
- Jakobi I: *Proizvodnja crnih vina*, Osijek, 2015.
- Kontrec M: *Utjecaj načina berbe grožđa na tijek fermentacije i kvalitetu crnih vina*, Osijek, 2017.
- Licul R, Premužić D: *Praktično vinogradarstvo i podrumarstvo*. Znanje, Zagreb, 1977.
- Lytra G, Tempere S, Floch A, Revel G, Barbe JC: Study of Sensory interactions among red Wine Fruity esters in a model Solution. *Journal of agricultural and Food chemistry* 61(36): 8504-13, 2013.
- Mihovilović M: Utjecaj procesnih parametara na zadržavanje tvari boje i arome vina od jabuke. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet Osijeku, 2016.
- Moreno J, Peinado R: *Enological chemistry*. Academic Press, Boston, 2012.
- Ough CS, Amerine MA: *Phenolic Compounds. Methods for Analysis of Musts and Wines (2nd ed.)*. New York: John Wiley & Sons Inc., 1988.
- Perez AG, Rios JJ, Sanz C, Olias JM: Aroma components and Free amino acids in Strawberry variety chandler during ripening. *Journal of agricultural and Food chemistry* 40: 2232-2235, 1992.
- Pozderović A: *Osnove tehnologije vina*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2013.
- Pravilnik o analizi vina, 2004.
- Presečan S: Hrvatska vina. *Nastavni materijali*, Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, 2004.
- Primorac Lj: Kontrola kakvoće hrane. *Interna skripta*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2007.
- Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR: *Gas Chromatography*. U: Fundamentals of Analytical Chemistry. Simpson C, Kiselica S, Landsberg A, Berardy Schwartz R, urednici, Belmont, CA, Mary Finch, 2014.
- Skupien K, Oszmainski J: Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* duch.) grown in northwest poland. *European Food research and Technology* 219(1): 66-70, 2004.
- Stričević D, Sever B: *Organska kemija*. Profil International, Zagreb, 2001.

Vrdoljak I: Utjecaj membranske filtracije na aromu i kemijski sastav vina sorte Graševina. *Diplomski rad*, Prehrambeno tehnološki fakultet u Osijeku, 2009.

Zoričić M: *Kultura vina*. V.B.Z., Zagreb, 2009.

Zoričić M: *Podrumarstvo*. Globus, Zagreb, 1996.

Web 1:

http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/mehani%20sastav%20grozda+bijela%20vina.pdf, pristupljeno 8.9.2017.

WEB 2:

http://studenti.ptfos.hr/Diplomski_studij/Tehnologija_vina/proizvodnja%20crnih%20vina.pdf, pristupljeno 8.9.2017.

WEB 3:

https://www.google.hr/search?q=Shematski+prikaz+plinskog+kromatografa&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b-ab&gfe_rd=cr&dcr=0&ei=zmTGWfa1Bqjs8wecz6igDw, pristupljeno 12.9.2017.

WEB 4:

https://www.google.hr/search?q=plavac+mali&client=firefox-b-ab&dcr=0&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjFma3spLTWAhXldpoKHckUBDsQ_AUICigB&biw=1366&bih=659, pristupljeno 12.9.2017.

WEB 5: Gospić AM: *Ispitivanje preciznosti i primjena nove HSS-GC-FID metode za određivanje lakohlapljivih spojeva u maslinovom ulju*. Zagreb, 2015., pristupljeno 20.9.2017.